

**Einfluss unterschiedlicher Stickstoffdüngung auf die
Aminosäurekonzentration und -zusammensetzung des
Phloemsaftes von *Tanacetum vulgare* (L.)
und auf das Such- und Saugverhalten der monophagen
Blattlausarten *Uroleucon tanacetii* (Mordv.) und
Macrosiphoniella tanacetaria (Kalt.)**

Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der
Fakultät Biologie, Chemie und Geowissenschaften
der Universität Bayreuth

vorgelegt von

Heike Nowak

aus Frankfurt (Oder)

Bayreuth, April 2008

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von Dezember 2004 bis April 2008 am Lehrstuhl für Pflanzenphysiologie der Universität Bayreuth unter der Betreuung von Prof. Dr. Ewald Komor angefertigt.

Gefördert durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft im Rahmen des Graduiertenkollegs 678: „Ökologische Bedeutung von Wirk- und Signalstoffen bei Insekten - von der Struktur zur Funktion“.

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät Biologie, Chemie und Geowissenschaften der Universität Bayreuth genehmigten Dissertation zur Erlangung des akademischen Grades eines Doktors der Naturwissenschaften (Dr. rer. nat.).

Promotionsgesuch eingereicht am: 21.04.2008

Tag des wissenschaftlichen Kolloquiums: 02.07.2008

Prüfungsausschuss:

Prof. Dr. Ewald Komor (Erstgutachter)

Prof. Dr. Klaus H. Hoffmann (Zweitgutachter)

Prof. Dr. Carlo Unverzagt (Vorsitzender)

Prof. Dr. Gerhard Gebauer

Prof. Dr. Ingolf Steffan-Dewenter

Inhaltsverzeichnis.....	I
Abbildungsverzeichnis	V
Tabellenverzeichnis	VIII
Abkürzungen	IX

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1
1.1 Stickstoff als wichtigstes Nährelement für Pflanzen.....	1
1.2 Phloemsaft als Nahrung für Insekten	3
1.3 Die Inhaltsstoffe des Phloemsaftes.....	6
1.4 Zielsetzung und Fragestellungen.....	8
2. Material und Methoden.....	11
2.1 Die Versuchs- und Futterpflanze Rainfarn (<i>Tanacetum vulgare</i> L.).....	11
2.2 Nachzucht von Versuchspflanzen	11
2.3 Zusammensetzung der Nährlösungen	12
2.4 Gießschemata	13
2.5 Verwendete Blattlausarten	14
2.5.1 <i>Uroleucon tanaceti</i>	15
2.5.2 <i>Macrosiphoniella tanacetaria</i>	15
2.5.3 <i>Metopeurum fuscoviride</i>	15
2.6 Gewinnung von Phloemsaft	16
2.6.1 Vorbereitung der Pflanze und Ansetzen der Blattläuse	17
2.6.2 Stylektomie und Sammeln von Phloemsaft.....	17
2.6.3 Anspitzen der Wolfram-Nadel.....	18
2.7 Aminosäureanalysen mittels HPLC (High Performance Liquid Chromatography)	19
2.8 Bestimmung der Saccharosekonzentration im Phloemsaft	22
2.9 Untersuchungen zu Verdunstungseffekten von künstlichem Phloemsaft	24
2.10 Sammeln von Honigtau bei <i>Metopeurum fuscoviride</i>	24
2.11 Untersuchung des Stickstoffeinflusses auf Wachstumsparameter	25
2.11.1 Frisch- und Trockengewicht der ober- und unterirdischen Biomasse	25

2.11.2 Messen der Blattflächen.....	25
2.11.3 Bestimmung der C/N-Verhältnisse	26
2.12 Bestimmung des Stickstoffgehaltes von Bodenproben natürlicher Rainfarnstandorte	26
2.12.1 Probennahme und Extraktion.....	26
2.12.2 Ammoniumbestimmung	27
2.12.3 Nitratbestimmung	29
2.13 Such- und Saugverhalten der Blattläuse an unterschiedlich N-gedüngten Pflanzen....	29
2.13.1 EPG-Messungen (Electrical Penetration Graph)	30
2.13.2 Präferenzversuche	34
2.14 Vergleich der Blattvergilbung bei Befall durch die Blattlausarten <i>U. tanaceti</i> und <i>M. tanacetaria</i>	35
2.15 Auswertung und statistische Tests	36
3. Ergebnisse	37
3.1 Anzahl und Verwendung der durch vegetative Vermehrung gewonnenen Pflanzen...	37
3.2 Stylektomie und Sammeln von Phloemsaft.....	38
3.2.1 Eignung der verwendeten Blattlausarten für die Stylektomie und Exsudationsraten	38
3.2.2 Anzahl der beprobten Pflanzen und Gesamtmenge des gesammelten Phloemsaftes	40
3.3 Qualitative und quantitative Bestimmung der Aminosäuren mittels HPLC	41
3.4 Einfluss unterschiedlicher Stickstoffversorgung auf die Aminosäurekonzentration des Phloemsaftes	43
3.5 Einfluss unterschiedlicher Stickstoffversorgung auf die Zusammensetzung des Aminosäurespektrums des Phloemsaftes	44
3.5.1 Für die Stylektomie verwendete Blattlausart: <i>Uroleucon tanaceti</i>	44
3.5.2 Für die Stylektomie verwendete Blattlausart: <i>Macrosiphoniella tanacetaria</i> ...	47
3.5.3 Einfluss der verwendeten Blattlausarten auf die Aminosäurezusammensetzung des Phloemsaftes	49
3.6 Langzeitexsudation einer 3 mM NH_4NO_3 -gedüngten Pflanze.....	51
3.6.1 Maximale Exsudationsdauer, Phloemsaftausbeute und Exsudationsgeschwindigkeit	51
3.6.2 Variabilität der Aminosäurezusammensetzung des Phloemsaftes im Zeitverlauf.....	53

3.6.3	Prozentuale Anteile einzelner Aminosäuren am Gesamtaminosäuremuster im Zeitverlauf.....	54
3.6.4	Einfluss des Stickstoffangebotes auf die Variabilität des Aminosäure-Spektrums	56
3.6.5	Einfluss des Stickstoffangebotes auf die prozentualen Anteile einzelner Aminosäuren am Gesamtaminosäuremuster	57
3.6.6	Einfluss des Stickstoffangebotes und der Zeit auf die Konzentrationen der Aminosäuren in Phloemsaftproben.....	59
3.7	Vergleich mehrerer aufeinander folgender Phloemsaftproben einer Siebröhre und Aminosäurezusammensetzung verschiedener Siebröhren eines Blattes	61
3.8	Vergleich des Honigtaus von Blattläusen mit dem dazugehörigen Phloemsaft.....	64
3.8.1	Aminosäurekonzentrationen	64
3.8.2	Aminosäurezusammensetzung.....	67
3.9	Saccharosekonzentrationen im Phloemsaft	68
3.10	Verdunstungseffekte an künstlichem Phloemsaft	69
3.11	Untersuchungen des Stickstoffeinflusses auf Wachstumsparameter	71
3.11.1	Frisch- und Trockengewicht der ober- und unterirdischen Biomasse	71
3.11.2	Blattflächen.....	73
3.11.3	C/N-Gehalte von Blättern NH_4NO_3 -gedüngter Versuchspflanzen im Vergleich zu Freilandpflanzen natürlicher Rainfarnstandorte.....	74
3.12	Bestimmungen des Ammonium- und Nitratgehaltes von Bodenproben natürlicher Rainfarnstandorte	76
3.13	Untersuchungen zum Such- und Saugverhalten von Blattläusen an unterschiedlich NH_4NO_3 -gedüngten Pflanzen mittels Electrical Penetration Graphs (EPGs).....	79
3.13.1	Gesamtdauer der Such- und Saugaktivitäten im Pflanzengewebe.....	79
3.13.2	Anzahl von Gewebe-, Zell- und Phloemanstichen	80
3.13.3	Relative Dauer der „stylet pathway activities“	81
3.13.4	Relative Dauer der Xylemsaftaufnahme	82
3.13.5	Relative Dauer der „derailed stylet mechanics“	83
3.13.6	Dauer bis zum ersten Phloemanstich	84
3.13.7	Relative Dauer der Aufnahme von Phloemsaft	84
3.13.8	Weitere Betrachtungsweisen zur Dauer der Phloemsaftaufnahme.....	86
3.13.9	Zusammenfassung der Verhaltensbeobachtungen der Blattläuse an unterschiedlich NH_4NO_3 -gedüngten Rainfarnpflanzen mittels EPG-Messungen	88

3.14 Präferenzversuche mit Blattläusen der Art <i>U. tanaceti</i> und <i>M. tanacetaria</i> an unterschiedlich NH_4NO_3 -gedüngten Pflanzen	90
3.15 Vergleich der Blattvergilbung bei Befall durch die Blattlausarten <i>U. tanaceti</i> und <i>M. Tanacetaria</i>	92
4. Diskussion.....	94
4.1 Nachzucht der Rainfarnpflanzen mit verschiedenen Vermehrungsmethoden	94
4.2 Stickstoffversorgung der Pflanzen im Gewächshaus und im Freiland.....	95
4.3 Eignung von Rainfarn und der daran saugenden Blattlausarten für die Stylektomie sowie Geschwindigkeit, Dauer und Ausbeute stattfindender Exsudationen.....	99
4.4 Einfluss des Stickstoffangebotes auf die Konzentration und Zusammensetzung der Aminosäuren im Phloemsaft	102
4.4.1 Aminosäure- und Saccharosekonzentrationen im Phloemsaft.....	102
4.4.2 Aminosäurezusammensetzung des Phloemsaftes	104
4.5 Einfluss der zum Phloemsaft sammeln verwendeten Blattlausarten auf die Zusammensetzung der Aminosäuren im Phloemsaft	108
4.6 Unterschied zwischen Aminosäuregehalt des Phloemsaftes und des Honigtaus sowie Rolle der Endosymbionten bei der Bereitstellung der essentiellen Aminosäuren	110
4.7 Blattlausverhalten an unterschiedlich NH_4NO_3 -gedüngten Rainfarnpflanzen.....	114
5. Zusammenfassung.....	118
6. Summary	120
7. Literaturverzeichnis.....	122
Anhang	A - I
Danksagung	

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Übersicht über die Zusammenhänge der untersuchten Fragestellungen.....	10
Abbildung 2: a) Rainfarnpflanzen; b) Anordnung der Jungpflanzen im Klimaabteil.....	13
Abbildung 3: Entwicklungszyklus einer monözischen Blattlausart im Jahresverlauf	14
Abbildung 4: Verwendete Blattlausarten	16
Abbildung 5: a) Aufbau der Radiofrequenz-Sonde; b) Vorrichtung zum elektrolytischen Anspitzen der Wolfram-Nadel	19
Abbildung 6: Derivatisierung von Aminosäuren durch o-Phthaldialdehyd (OPA) und Mercaptoethanol.....	20
Abbildung 7: Chemische Reaktionen während der Saccharosebestimmung	22
Abbildung 8: Berthelot-Reaktion zum Nachweis von Ammoniumionen	28
Abbildung 9: Nitritnachweisreaktion	29
Abbildung 10: a) Aufbau eines EPG-Stromkreises und Basiselemente; b) Insektenelektrode	30
Abbildung 11: a) Blattlaus mit Golddraht; b) Position während EPG-Messung	32
Abbildung 12: Graphische Darstellung eines EPGs	33
Abbildung 13: Versuchsaufbau der Präferenzversuche	34
Abbildung 14: Unterschiedlich stark geschädigte Blätter nach Befall von Blattläusen	35
Abbildung 15: Zeitpunkt der ersten anhaltenden Exsudation nach Ansetzen der Blattläuse.	39
Abbildung 16: HPLC-Chromatogramm eines Aminosäurestandards	41
Abbildung 17: HPLC-Chromatogramm einer Phloemsaftprobe.....	42
Abbildung 18: Korrelation zwischen den Gesamtaminosäurekonzentrationen des Phloemsaftes und den NH_4NO_3 -Konzentrationen der Nährlösungen	43
Abbildung 19: Aminosäurezusammensetzung des Phloemsaftes (gesammelt mit <i>U. tanacet</i> i) von unterschiedlich NH_4NO_3 -gedüngten Rainfarnpflanzen.....	44
Abbildung 20: Korrelation zwischen Aspartat bzw. Asparagin und den Konzentrationen der verwendeten Nährlösungen. <i>U. tanacet</i> i wurde zum Sammeln der Phloemsaft- proben verwendet	45
Abbildung 21: Aminosäurezusammensetzung des Phloemsaftes (gesammelt mit <i>M. tanaceta</i> - <i>ria</i>) von unterschiedlich NH_4NO_3 -gedüngten Rainfarnpflanzen.....	47
Abbildung 22: Korrelation zwischen Aspartat, Glutamat, Asparagin, Glutamin und den Konzentrationen der verwendeten Nährlösungen. <i>M. tanacetaria</i> wurde zum Sammeln der Phloemsaftproben verwendet	48

Abbildung 23: Vergleich der NH_4NO_3 -unabhängigen Aminosäuren im Phloemsaft	50
Abbildung 24: Vergleich der prozentualen Anteile von Methionin + Tryptophan.....	51
Abbildung 25: Durchschnittliche Exsudationsgeschwindigkeiten des Phloemsaftes	52
Abbildung 26: Multidimensionale Skalierung der Aminosäurezusammensetzung des Phloemsaftes im Zeitverlauf.....	53
Abbildung 27: Vergleich der prozentualen Anteile der dominanten Aminosäuren im Zeitverlauf von fünf Wochen	55
Abbildung 28: Multidimensionale Skalierung der Aminosäurezusammensetzung des Phloem- saftes im Zeitverlauf unter Einfluss unterschiedlicher Stickstoffdüngung.....	56
Abbildung 29: Prozentuale Verteilung der Aminosäuren, die Unterschiede nach den Nährlösungswechseln in der 1. Woche zeigten	58
Abbildung 30: Prozentuale Verteilung der Aminosäuren, die Unterschiede nach dem Nährlösungswechsel in der 2. Woche zeigten	59
Abbildung 31: Multidimensionale Skalierung der Aminosäurekonzentrationen des Phloem- saftes im Zeitverlauf unter Einfluss unterschiedlicher Stickstoffdüngung.....	60
Abbildung 32: Multidimensionale Skalierung der Aminosäurezusammensetzung von Phloem- saftproben (gesammelt mit <i>U. tanacetii</i>) von 6 mM NH_4NO_3 - Pflanzen, die nacheinander gesammelt wurden	61
Abbildung 33: Multidimensionale Skalierung der Aminosäurezusammensetzung von Phloem- saftproben (gesammelt mit <i>M. tanacetaria</i>) unterschiedlich N-versorgter Pflanzen, die nacheinander gesammelt wurden.....	62
Abbildung 34: Gesamtaminosäurekonzentration aufeinander folgender Phloemsaftproben.	63
Abbildung 35: Vergleich der Aminosäurekonzentrationen von Honigtau und Phloemsaft...	65
Abbildung 36: Multidimensionale Skalierung der Ähnlichkeiten des Phloemsaftes und der dazugehörigen Honigtauproben.....	66
Abbildung 37: Vergleich der Konzentrationen der Aminosäuren von Phloemsaft- und Honigtauproben	67
Abbildung 38: Vergleich der Aminosäurezusammensetzung von Honigtauproben und den dazugehörigen Phloemsaftproben.....	68
Abbildung 39: Korrelation zwischen den Saccharosekonzentrationen des Phloemsaftes und der Sammeldauer der Proben.....	69
Abbildung 40: Verdunstungsverluste an künstlichem Phloemsaft	70
Abbildung 41: Frischgewicht von unterschiedlich gedüngten Rainfarnpflanzen	71
Abbildung 42: Wassergehalt von unterschiedlich gedüngten Rainfarnpflanzen	72

Abbildung 43: Blattflächen von unterschiedlich gedüngten Rainfarnpflanzen	73
Abbildung 44: C- und N-Gehalte von Blattproben unterschiedlicher Rainfarnstandorte	74
Abbildung 45: C/N-Verhältnisse von Versuchspflanzen im Vergleich zu Freiland- pflanzen	75
Abbildung 46: Bodenwassergehalte natürlicher Rainfarnstandorte	76
Abbildung 47: NH_4 -Konzentrationen im Bodenwasser natürlicher Rainfarnstandorte	77
Abbildung 48: NO_3 -Konzentrationen im Bodenwasser natürlicher Rainfarnstandorte	78
Abbildung 49: a) Blatt- und b) Siebröhrenanstiche pro Individuum und EPG-Messung	80
Abbildung 50: Relative Dauer der „stylet pathway activities“ von <i>M. tanacetaria</i>	82
Abbildung 51: Relative Dauer der Xylemsaftaufnahme von <i>U. tanaceti</i>	83
Abbildung 52: Relative Dauer der Phloemsaftaufnahme von <i>U. tanaceti</i>	84
Abbildung 53: Relative Dauer der Phloemsaftaufnahme von <i>M. tanacetaria</i>	85
Abbildung 54: Saugdauer pro Siebröhrenanstich der Blattlausart <i>U. tanaceti</i>	86
Abbildung 55: Saugdauer pro Siebröhrenanstich der Blattlausart <i>M. tanacetaria</i>	87
Abbildung 56: Verteilung von <i>U. tanaceti</i> an Blättern unterschiedlich NH_4NO_3 -gedüngter Rainfarnpflanzen	90
Abbildung 57: Verteilung von <i>M. tanacetaria</i> an Blättern unterschiedlich NH_4NO_3 - gedüngter Rainfarnpflanzen	91
Abbildung 58: Reproduktionsraten von <i>U. tanaceti</i> und <i>M. tanacetaria</i> an Blättern unterschiedlich NH_4NO_3 -gedüngter Rainfarnpflanzen	92
Abbildung 59: Prozentualer Anteil geschädigter Blätter im Zeitverlauf	93
Abbildung 60: Pflanzen zu Beginn des Schädigungsversuches und nach Blattlausbefall	93
Abbildung 61: Niederschlagsmengen und Tagesdurchschnittstemperaturen Mai - Juli 2006	98
Abbildung 62: Herkunft der Kohlenstoffgerüste für die Synthese der Aminosäuren	106
Abbildung 63: Stickstoffmetabolismus innerhalb der Blattlaus	112

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Zusammensetzung der verwendeten Nährlösungen.....	12
Tabelle 2: Zusammensetzung der Derivatisierungsreagenzien (OPA 1 und OPA 2)	20
Tabelle 3: Zusammensetzung der verwendeten Laufmittel	21
Tabelle 4: Zeitlicher Verlauf des Laufmittelgradienten während einer HPLC-Messung	21
Tabelle 5: Reaktionsansatz zur Spaltung der Saccharose in Glucose und Fructose	23
Tabelle 6: Reaktionsansatz zur Bestimmung von Glucose	23
Tabelle 7: Reaktionsansatz zur Bestimmung von Ammoniumkonzentrationen in Bodenproben	28
Tabelle 8: Zeitliche Abfolge der Pflanzennachzucht, Alter der Pflanzen und Dauer der Nährlösungsgabe sowie Verwendungszweck	37
Tabelle 9: Anzahl abgegebener Radiofrequenzimpulse und Erfolgsraten	38
Tabelle 10: Anzahl durchtrennter Stilette und Exsudationsraten	39
Tabelle 11: Anzahl der Pflanzen, von denen Phloemsaft gesammelt wurde	40
Tabelle 12: Vergleich der NH_4NO_3 -abhängigen Aminosäuren unter Einfluss verschiedener Stickstoffkonzentrationen und Aphidenarten	50
Tabelle 13: Paarweise Vergleiche der Sammelzeitpunkte von Phloemsaft im Zeitverlauf ...	54
Tabelle 14: Vergleich von Sammelzeitpunkt und Nährlösungskonzentration nach Wechsel der N-Düngung innerhalb Sammelzeit.....	57
Tabelle 15: Ergebnisse der statistischen Auswertung nach Nährlösungswechsel	58
Tabelle 16: Prozentuale Volumenänderung von künstlichem Phloemsaft im Verlauf von 24 Stunden.....	70
Tabelle 17: Auswirkungen der Zunahme der Stickstoffkonzentration in den Nährlösungen auf das Trockengewicht der Sprosse und Wurzeln sowie auf das Wurzel/Spross- Verhältnis	72
Tabelle 18: Zusammenfassung ausgewählter Parameter des Such- und Saugverhaltens zweier Blattlausarten an unterschiedlich NH_4NO_3 -gedüngten Rainfarnpflanzen	89

Abkürzungen

Blattlausarten und Pflanzen:

<i>A. fabae</i>	<i>Aphis fabae</i>
<i>A. pisum</i>	<i>Acyrtosiphon pisum</i>
<i>D. noxia</i>	<i>Diuraphis noxia</i>
<i>N. ribisnigri</i>	<i>Nasonovia ribisnigri</i>
<i>M. fuscoviride</i>	<i>Metopeurum fuscoviride</i>
<i>M. persicae</i>	<i>Myzus persicae</i>
<i>M. tanacetaria</i>	<i>Macrosiphoniella tanacetaria</i>
<i>R. padi</i>	<i>Rhopalosiphum padi</i>
<i>S. chenensis</i>	<i>Schlechtendalia chinensis</i>
<i>S. graminum</i>	<i>Schizaphis graminum</i>
<i>S. pineti</i>	<i>Schizolachnus pineti</i>
<i>T. vulgare</i>	<i>Tanacetum vulgare</i>
<i>U. ambrosiae</i>	<i>Uroleucon ambrosiae</i>
<i>U. tanacetii</i>	<i>Uroleucon tanacetii</i>

Weitere Abkürzungen:

ANOSIM	Analysis of Similarities
APT	Adenosintriphosphat
BayCEER	Bayreuth Center of Ecology and Environmental Research
bzw.	beziehungsweise
C	Kohlenstoff
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
EPG	Electrical Penetration Graph
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
HT	Honigtau
L:D	Licht:Dunkel
M	Molar
min	Minuten
mM	Milli-Molar
mV	Milli-Volt
n	Stichprobengröße
N	Stickstoff
NADPH	Nicotinamidadenindinucleotidphosphat
NH ₄ NO ₃	Ammoniumnitrat
NH ₄	Ammonium
nl	Nano-Liter
NO ₂	Nitrit
NO ₃	Nitrat
OPA	ortho-Phthaldialdehyd
o. g.	oben genannte
p	Fehlerwahrscheinlichkeit
PS	Phloemsaft
u. a.	und andere
UV	Ultraviolett
z. B.	zum Beispiel

Aminosäuren:

Aba	α-Amino- buttersäure
Ala	Alanin
Arg	Arginin
Asn	Asparagin
Asp	Aspartat
Gaba	γ-Amino- buttersäure
Gln	Glutamin
Glu	Glutamat
Gly	Glycin
Gsh	Glutathion
Ile	Isoleucin
Leu	Leucin
Lys	Lysin
Met	Methionin
Phe	Phenylalanin
Ser	Serin
Thr	Threonin
Trp	Tryptophan
Tyr	Tyrosin
Val	Valin

1. Einleitung

1.1 Stickstoff als wichtigstes Nährelement für Pflanzen

Pflanzen benötigen für ihre Ernährung eine Vielzahl von Elementen, die aus Mineralien oder dem biologischen Abbau organischer Substanz stammen. Neben einer Reihe von Spurenelementen werden bestimmte Nährstoffe in größeren Mengen benötigt. Zu diesen Hauptnährelementen zählen Phosphat, Schwefel, Kalium, Calcium, Magnesium und Stickstoff. Das mengenmäßig wichtigste Nährelement für die Pflanze ist der Stickstoff. Dieser steht beim Aufbau der Phytomasse nach Kohlenstoff, Sauerstoff und Wasserstoff an vierter Stelle (Larcher, 2001) und bildet in Form von Proteinen, Nucleinsäuren und sekundären Pflanzenstoffen einen wesentlichen Bestandteil des Protoplasmas und der Enzyme.

Stickstoff kommt in einem Prozentsatz von fast 80% in der Atmosphäre in Form von N_2 vor und kann von einigen Pflanzen, die in Symbiose mit stickstofffixierenden Bakterien leben, in dieser Form genutzt werden. Allerdings ist dies nur einigen Pflanzenfamilien vorbehalten (z. B. Leguminosen) - die Mehrheit aller Pflanzen kann nur den Stickstoff aus dem Boden nutzen. Dort kommt dieser in größeren Mengen in Form von organischem Material (z. B. Humus) und in geringen Mengen in Form von anorganischen Nitrat- (NO_3^-) und Ammoniumionen (NH_4^+) vor. Humus ist das Ausgangsmaterial für den mikrobiellen Abbau (Ammonifikation) durch Ammoniak bildende Bakterien. Dieser Ammoniak (NH_3) liegt bei neutralem pH als NH_4^+ vor. Durch die Tätigkeit nitrifizierender Mikroorganismen (*Nitrosomonas* und *Nitrobacter*) wird das Ammonium über Nitrit (NO_2^-) zu Nitrat oxidiert (Madigan et al., 2001). Weitere Mikroorganismen im Boden sind zudem in der Lage den Luftstickstoff zu fixieren und tragen so zur Anreicherung von NH_4^+ im Boden bei (Campbell & Reece, 2006).

Zwischen der Bereitstellung von Ammonium und Nitrat durch die Mikroorganismen und der Nutzung dieser Stickstoffquellen durch die Pflanzen kommt es zu einem Kreislauf, der geschlossen wird, wenn die Pflanzen nach ihrem Absterben auf dem Boden liegen bleiben und so in Form von Humus den Bodenorganismen wieder als Substrat dienen.

Die Pflanzen entnehmen dem Boden mit Hilfe ihrer Wurzeln den Stickstoff in Form von NO_3^- und NH_4^+ (Marschner, 1995). Zusätzlich können Aminosäuren direkt aus dem Streuabbau oder über die Bodenlösung aufgenommen werden (Wallenda et al., 2000). Den Hauptanteil des aufgenommenen Stickstoffs stellt Nitrat dar, welches gelöst im Bodenwasser vorkommt und so für die Pflanze leicht verfügbar ist - die Aufnahme erfolgt im Symport mit

Protonen (Heldt, 2003). Ammonium sorbiert an Tonmineralien und Humus (Scheffer & Schachtschabel, 1992) und muss aus diesen Verbindungen ausgelöst werden, bevor die Aufnahme in die Wurzel - im Antiport mit Protonen - stattfinden kann (Schulze, 2002).

Das in die Zellen der Wurzel aufgenommene Nitrat kann dort in der Vakuole zwischengespeichert werden oder im Cytosol mit Hilfe der Nitratreduktase zu Nitrit reduziert werden. Anschließend wird das Nitrit im Leukoplasten der Wurzelzelle mit Hilfe der Nitritreduktase zu Ammonium reduziert. Dieses wird unter Beteiligung der Glutaminsynthase und ATP-Verbrauch auf Glutamat übertragen, wobei Glutamin entsteht. In einem weiteren Schritt wird die Aminogruppe des Glutamins mittels Glutamatsynthase (auch als Glutamin-Oxoglutarat-Aminotransferase, kurz GOGAT, bezeichnet) auf α -Ketoglutarat übertragen. Es entstehen zwei Moleküle Glutamat, die entweder abtransportiert werden oder erneut der Nitratassimilation dienen. Ammoniumionen, welche direkt aus dem Boden aufgenommen wurden, werden auf die gleiche Weise für die Glutamatsynthese verwendet. Von der primären Aminosäure Glutamat leiten sich die übrigen Aminosäuren ab, deren Kohlenhydratgerüste aus dem Kohlenhydratstoffwechsel der Pflanze stammen. Die Aminosäuren Glutamin und Asparagin, aber auch überflüssiges Nitrat, werden von den Wurzelzellen zu den Mesophyllzellen des Sprosses und der Blätter mittels Xylem transportiert. In den Mesophyllzellen wird Nitrat auf gleiche Weise zu Aminosäuren umgewandelt, wobei die Blätter der meisten ausgewachsenen krautigen Pflanzen sogar den Hauptanteil der Nitratassimilation tragen (Heldt, 2003).

Der Transport der Stoffe über die Leitbahnen des Xylems stellt nur eine Möglichkeit der Stickstoffversorgung innerhalb der Pflanze dar. Das Xylemsystem transportiert Wasser und darin gelöste Substanzen stets von der Wurzel zu den Blättern oder dem Spross. Antrieb dazu ist die Transpiration der photosynthetisch aktiven Pflanzenorgane. Eine weitere Möglichkeit zur Verlagerung von Aminosäuren bieten die Siebröhren des Phloems. Der Phloemtransport basiert auf dem Massenstrom von Photoassimilaten und richtet sich immer von Zellen der Synthese (Source) zu Zellen des Verbrauches (Sink). Das Phloem besteht hauptsächlich aus den Siebelementen, einzelne lang gestreckte Zellen, die durch siebartig durchbrochene Quer- und Schrägwände, so genannte Siebplatten, miteinander verbunden sind und deren Aneinanderreihungen als Siebröhren bezeichnet werden. Die Siebelemente sind als lebende Zellen zu betrachten, haben dennoch den Zellkern und eine Reihe weiterer Zellorganellen verloren. Die Poren der Siebplatten sind erweiterte Plasmodesmen, die mit Callose ausgekleidet sind. Neben den Siebelementen beinhaltet das Phloem der Angiospermen zudem die Geleitzellen. Diese enthalten alle Bestandteile einer normalen lebenden Zelle. Beide

Zelltypen gehen aus einer gemeinsamen Zelle hervor und bilden bei der Phloembeladung eine funktionelle Einheit (Heldt, 2003). Die Haupttransportmetabolite des Phloems sind Zucker, überwiegend in Form von Saccharose, und freie Aminosäuren. Daneben können weitere Stickstoffverbindungen, Nucleotide, hohe Konzentrationen von ATP, Vitamine, organische Säuren, Phytohormone und Mineralstoffe von den Siebröhren transportiert werden (Sitte et al., 2002).

1.2 Phloemsaft als Nahrung für Insekten

Obwohl der Phloemsaft der Pflanze in erster Linie dem Ferntransport von Nährstoffen dient (Fischer, 2000), so stellt er aufgrund seiner Inhaltsstoffe doch auch eine interessante Nahrungsquelle für Herbivoren dar. Die hohen Konzentrationen an Zucker und freien Aminosäuren und das Fehlen von Toxinen und Fraßabwehrstoffen (Douglas, 2006) zeichnen den Phloemsaft aus. Dies gilt natürlich nicht für alle Pflanzen. Ausnahmen stellen z. B. Kürbisse dar, die sehr hohe Proteingehalte (10 - 40 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$) im Vergleich zu anderen Pflanzen (0,1-2,0 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$) aufweisen (Thompson & Schulz, 1999). Natürlich sind auch phloemmobile Sekundärstoffe, wie z. B. Glucosinolate in Kreuzblütlern (Merritt, 1996; Brudenell et al., 1999) und pyrrolizidine Alkaloide in verschiedenen Pflanzengruppen (Hartmann, 1999), bekannt. Ungeachtet dieser Ausnahmen jedoch bleibt der Phloemsaft eine nährstoffreiche Futterquelle, und daher ist es nicht überraschend, dass diesen einige Tiergruppen als Nahrung nutzen. So stellt Phloemsaft die dominante bzw. einzige Futterquelle für eine Reihe von Insekten der Ordnung Hemiptera (Schnabelkerfen) dar. Zu diesen Phloemsaft saugenden Hemipteren gehören die meisten Pflanzenläuse (z. B. Blattläuse, Weiße Fliege, Wollschildläuse und Blattflöhe), viele Zikaden und die meisten herbivoren Wanzen (Dolling, 1991). Andere Tiere konsumieren den nährstoffreichen Phloemsaft nur gelegentlich und als Zusatz zu ihrer eigentlichen Nahrung, wie z. B. Thripse und Schmetterlinge, aber auch Vögel wie Vertreter der Spechtart Saftlecker oder Kolibris und einige Primaten (Daiey et al., 1993; Passamani & Rylands, 2000). Allerdings kann Phloemsaft nicht problemlos als Nahrungsquelle genutzt werden. Insekten, die sich ausschließlich von ihm ernähren, haben dabei mit zwei entscheidenden Eigenschaften zu kämpfen. Beide resultieren aus der eigentlichen Funktion des Siebröhrensaftes - dem Transport von Photoassimilaten. Wie schon erwähnt besteht der Phloemsaft überwiegend aus Saccharose. Die Zuckerkonzentration liegt dabei bei bis zu 1 M und darüber. Der osmotische Druck der daraus resultiert ist 2 - 5mal größer als der osmotische Druck im Insekteninneren (Douglas, 2006). Zum Decken des

Aminosäurebedarfes, müssen Phloemsaft saugende Insekten aber sehr große Mengen von dieser Nahrung aufnehmen. Der Wasserentzug im Insektdarm, den derart hohe osmotische Kräfte auslösen würden, hätte dramatische Folgen für die Tiere. Daher wird überschüssiger Zucker in Form von Honigtau von den Tieren ausgeschieden. Bei Blattläusen konnte man zeigen, dass das osmotische Potenzial des Honigtaus dem des Insekteninneren entspricht. Die Tiere haben einen Weg gefunden, dem hohen osmotischen Potenzial des Phloemsaftes Herr zu werden, indem diese die aufgenommene Saccharose aufspalten und umsetzen. Die dafür benötigte Invertaseaktivität im Blattlausdarm konnte z. B. für die Erbsenblattlaus *Acyrtosiphon pisum* bereits gezeigt werden (Rhodes et al., 1997; Ashfort et al., 2000; Cristofolletti et al., 2003). Invertase spaltet die aufgenommene Saccharose in die Monosaccharide Glucose und Fructose und vermittelt zudem die Synthese von Oligosacchariden (Walters & Mullin, 1988; Ashfort et al., 2000). Die Transformation der Saccharose zu Oligosacchariden (Melzitose, Trehalose, Erlöse u. a.) führt dazu, dass der osmotische Druck reduziert wird. Bei der Blattlausart *Metopeurum fuscoviride* wird auf diese Weise das osmotische Potenzial der aufgenommenen Nahrung um 25 - 35% gesenkt (Woodring et al., 2007) und der entstandene Zucker (in diesem Fall überwiegend Melzitose) dient zudem als Signalzucker für Ameisen, die mit diesen Blattläusen in enger Interaktion leben (Fischer et al., 2002, 2005; Woodring et al., 2004).

Es scheint allerdings ausgeschlossen zu sein, dass in den Blattläusen lebende bakterielle Endosymbionten eine Rolle bei der Osmoregulation spielen (Wilkinson et al., 1997). Die Mikroorganismen der Gattung *Buchnera* lösen vielmehr das zweite Problem, das Phloemsaft als Nahrungsquelle darstellt, nämlich den geringen Anteil an essentiellen Aminosäuren. Der Stickstoffgehalt der Nahrung beeinflusst das Wachstum und die Fruchtbarkeit von phytophagen Insekten. Dabei kann sowohl die Menge an verfügbarem Stickstoff, als auch die Qualität, d. h. der Gehalt an bestimmten Aminosäuren oder Aminosäuremustern, entscheidend sein. Da Insekten, wie alle anderen Tiere auch, nicht im Stande sind, alle für den Aufbau von Proteinen notwendigen Aminosäuren selbst zu synthetisieren, ist es für sie lebensnotwendig, diese so genannten essentiellen Aminosäuren (Arginin, Histidin, Isoleucin, Leucin, Lysin, Methionin, Phenylalanin, Threonin, Tryptophan und Valin) über die Nahrung aufzunehmen (Dadd, 1985). Dazu kommen noch Tyrosin und Cystein, die zwar nicht zu den essentiellen Aminosäuren gehören, aber aus diesen gebildet werden: Tyrosin aus Phenylalanin und Cystein aus Methionin (Sandström & Moran, 1999). Fehlt nur eine der genannten Aminosäuren in der Nahrung können sich die Tiere nicht normal entwickeln. Im Phloemsaft sind zwar alle Aminosäuren enthalten, jedoch kommen hauptsächlich Glutamin, Glutamat,

Asparagin und Aspartat in höheren Konzentrationen vor (Douglas, 1993; Sandström & Moran, 1999). Diese nicht essentiellen Aminosäuren dienen der Pflanze zum Teil als Ausgangsstoffe für die Aminosäuresynthese und werden daher in größeren Mengen innerhalb der Pflanze mittels Phloemsaft transportiert. Das Verhältnis von essentiellen zu nicht essentiellen Aminosäuren im Siebröhrensaft liegt bei 1:4-1:20. Im Phloemsaft von *Vicia faba* dominiert beispielsweise die Aminosäure Asparagin mit 72% am Gesamtaminosäuregehalt. Es konnten im Phloemsaft auch alle essentiellen Aminosäuren nachgewiesen werden, aber deren Anteil lag bei nur 8,2% (Douglas, 2006). Die Konzentrationen dieser Aminosäuren reichen daher nicht aus, um den Bedarf der Tiere zu decken (Sandström & Moran, 2001). Aufgrund dessen sind diese auf die Hilfe ihrer Endosymbionten angewiesen. Alle Phloemsaft saugenden Hemipteren besitzen symbiontische Bakterien. Pflanzenläuse und Zikaden beherbergen diese intrazellulär in speziellen Zellen (Bakteriozyten oder Mycetozyten), während die Symbionten von Wanzen in Divertikeln des Darmes untergebracht sind (Buchner, 1965; Douglas, 1989).

Das kokkoide γ -Proteobakterium *Buchnera* sp. der Blattläuse dominiert die Mikrobiota mit mehr als 90 - 99% aller Mycetozyten in der Hämolymphe der Blattläuse (Douglas, 2003). Untergebracht sind die Symbionten bei allen untersuchten Aphiden in einem Mycetom, welches reichlich mit Tracheen durchzogen ist und sich im hinteren Teil des Abdomens befindet (Buchner, 1965). Die Bakterien versorgen die Aphiden mit allen essentiellen Aminosäuren, die für das Wachstum und die Entwicklung der Tiere unverzichtbar sind (Liadouze et al., 1995; Sasaki & Ishikawa, 1995; Douglas 2006). Beweise dafür lieferten spezielle Versuche, bei denen die Symbionten der Blattläuse mit Hilfe von Antibiotika abgetötet wurden (Wilkinson, 1998) und die so entstandenen symbiontenfreien Insekten (Aposymbionten) mit chemisch definierten, künstlichen Diäten gefüttert wurden (Dadd, 1985). Eine normale Entwicklung der aposymbiontischen Aphiden konnte nur dann verzeichnet werden, wenn der künstlichen Nahrung alle essentiellen Aminosäuren beigelegt wurden. Blattläuse mit *Buchnera* Symbionten hingegen wurden auch an Futter, dem individuelle essentielle Aminosäuren fehlten, erfolgreich gezüchtet (Douglas, 1998). Diese waren zudem in der Lage, essentielle Aminosäuren aus Vorstufen zu synthetisieren (Douglas, 1988; Febvay et al., 1995, 1999; Wilkinson et al., 2001; Birkle et al., 2002). Für die Synthese der Aminosäuren sind die Bakterien verantwortlich - die Gene dafür konnten auf dem Genom der Symbionten von *A. pisum* bereits nachgewiesen werden (Shigenobu et al., 2000). Die Endosymbionten sind ferner für die Cholesterinversorgung verantwortlich, einem weiteren

wichtigen ernährungsphysiologischen Baustein für Insekten, der damit nicht in der Nahrung der Blattläuse enthalten sein muss (Ehrhardt, 1968).

1.3 Die Inhaltsstoffe des Phloemsaftes

Die Zusammensetzung des Phloemsaftes ist bisweilen schon umfangreich untersucht worden. Aussagen über die Konzentrationen der im Siebröhrensaft enthaltenen Aminosäuren unterscheiden sich allerdings zum Teil sehr stark. Die Angaben hierzu liegen zumeist in Bereichen von 60 - 200 mM, wobei die nicht essentiellen Aminosäuren den Hauptanteil bilden (Fukumurita & Chino, 1982; Lohaus et al., 1995, 1998; Winzer et al., 1996; Sandstöm & Moran, 2001; Bernays & Klein, 2002; Wilkinson & Douglas, 2003). Gleichwohl wurden aber auch schon Werte bis zu 500 mM gemessen (Lohaus & Moeller, 2000). Die Gründe für diese hohe Varianz können vielseitig sein. Es sei hier z. B. die Methodik des Phloemsaftsammlens erwähnt. Im Allgemeinen nutzt man dazu die sich vom Phloemsaft ernährenden Blattläuse. Die Aphiden haben, wie alle Hemiptera, die Mandibeln und Maxillen ihrer Mundwerkzeuge zu Stechborsten umgewandelt. Diese werden als Stilett bezeichnet und dienen dazu, Zellen und Leitungsbahnen anderer Organismen anzustechen. Das können neben den Siebröhren, an denen Blattläuse, Schildläuse, Mottenschildläuse, Blattflöhe und einige Zikadenarten saugen auch Xylemgefäße (Zikaden) sein. Zudem gibt es räuberische Wanzen, die mit Hilfe ihres Stechrüssels auch Hämolymphe bzw. Blut von Insekten und Wirbeltieren aufnehmen (Dettner, 2003). Die Fähigkeit der Blattläuse, gezielt die Siebröhren des Phloems anzustechen, macht man sich bei der Aphidentechnik (Stylektomie) zu Nutze. Hierbei wird einer saugenden Blattlaus der Stechrüssel durchtrennt. Der Phloemsaft tritt dann aus dem zurückbleibenden Stilettstumpf aus und kann mit Mikroglasskapillaren gesammelt werden. Da das Exsudat dabei zumeist mit der Luft in Berührung kommt und sich das Sammeln über mehrere Minuten bis Stunden erstreckt, können Verdunstungseffekte und eine damit verbundene Konzentrierung des Phloemsaftes oftmals nicht komplett ausgeschlossen werden. Auf diese Weise kann es dazu kommen, dass Aminosäure- und Zuckerkonzentrationen überschätzt werden.

Die vermutlich entscheidenden Faktoren, welche die Konzentrationen beeinflussen, sind jedoch in den biotischen sowie abiotischen Bedingungen zu suchen unter denen die Pflanze wächst. Zu den abiotischen Parametern gehören neben Wasser, Temperatur und Licht in erster Linie die Nährstoffe, die der Pflanze zur Verfügung stehen und der diurnale Rhythmus. Dieser Wechsel zwischen Tag und Nacht kann Schwankungen des Zuckergehaltes um den

Faktor zwei (Geiger & Servaites, 1994), aber auch Variationen im Aminosäuregehalt hervorrufen (Winter et al., 1992; Corbesier et al., 2001). Saisonal bedingte Konzentrationsunterschiede im Gehalt essentieller Aminosäuren von Blattexsudaten wurden von Bernays & Klein (2002) beschrieben. Studien zum Einfluss von Nährstoffen, insbesondere Stickstoff, auf den Aminosäuregehalt des Phloemsaftes existieren bisher nur wenige (Schobert & Komor, 1992; Peuke et al., 1994). Biotische Faktoren, welche die Zusammensetzung des Phloemsaftes steuern, sind zum einen der Entwicklungsstand der Pflanze selbst und zum anderen der Einfluss von Pflanzenschädlingen. Es konnte gezeigt werden, dass sich die Bestandteile des Phloemsaftes und deren Konzentrationen je nach Pflanzenreife ändern. Der Phloemsaft einer jungen austreibenden Pflanze ist anders zusammengesetzt als jener einer Pflanze, die blüht oder im Absterben begriffen ist (Mittler, 1957b). Zudem sind Blattläuse auf unterschiedlicher Art und Weise in der Lage, den Gehalt an Aminosäuren in der Pflanze zu erhöhen. Es ist z. B. bekannt, dass Gallenbildung, ausgelöst durch das Saugen von Aphiden, zu einer Nährstoffanreicherung des betroffenen Gewebes führen kann (Forrest, 1971). Außerdem konnte beobachtet werden, dass das Saugen von bestimmten Blattlausarten chlorotische Schäden verursacht und gleichzeitig einen Anstieg der Aminosäurekonzentration im Blatt auslöst (Dorschner et al., 1987; Riedell, 1989; Sandström et al., 2000). Blattläuse, die nicht befähigt sind, den Aminosäuregehalt des Phloemsaftes zu manipulieren, haben dennoch die Möglichkeit unterschiedliche Nährstoffressourcen zu nutzen. So unterscheiden sich die Inhaltsstoffe der Siebröhren nicht nur zwischen verschiedenen Pflanzenteilen, sondern auch zwischen einzelnen Leitgefäßen innerhalb des gleichen Gewebes (Girousse et al., 1996; Telang et al., 1999).

Die Phloemsaft saugenden Insekten können also durch ein ausgeprägtes Futtersuchverhalten innerhalb des angestochenen Gewebes Leitbahnen finden, die reicher an Aminosäuren sind als andere. Blattläuse, die mit der Qualität einer penetrierten Siebröhren nicht zufrieden sind, ziehen ihr Stilet zurück und suchen an gleicher oder anderer Stelle erneut nach Phloemgefäßen (Douglas, 2006). Dieses Verhalten kann mit einer speziellen Technik beobachtet werden. Die hierzu verwendeten Electrical Penetration Graphs (EPGs) messen und zeichnen Potenzialänderungen auf, die entstehen, wenn Blattläuse und Pflanzen in einen Stromkreis integriert werden. Die angestochenen Zellen und Gewebe haben verschiedene Widerstände, und so ist die Beobachtung des Futtersuchverhaltens von Blattläusen und anderen Leitbahnsaugern innerhalb der unterschiedlichen Pflanzengewebe möglich.

In dieser Dissertation wurde Rainfarn (*Tanacetum vulgare* L.) als Untersuchungsobjekt verwendet. *T. vulgare* ist eine ausdauernde Pflanze, die auf ruderalen Standorten (Wald- und Wegränder, Schuttplätze, sonnige Raine und Hügel) mit mäßigem Stickstoffangebot (Ellenberg, 1979) vorkommt. Diese wird schon seit langer Zeit als Heilpflanze verwendet (Mitich, 1992) und kam hauptsächlich als Wurmmittel, bei Appetitlosigkeit, Rheuma und Darmproblemen zum Einsatz. Heute wird Rainfarn allerdings als toxisch eingestuft (Pahlow, 2006) und ist daher als Heilpflanze nur für die äußere Anwendung geeignet. Im Mittelalter setzte man die Giftigkeit dieser Pflanze bewusst zu Abtreibungszwecken ein. Für die medizinische Wirkung von *T. vulgare* sind in erster Linie ätherische Öle verantwortlich, die viel Thujon, den Bitterstoff Tanacin, Gerbstoffe, Vitamine und eine Reihe weitere Sekundärstoffe enthalten. Diese Stoffe führen auch dazu, dass *T. vulgare* von vielen phytophagen Insekten nicht genutzt wird und auch im biologischen Pflanzenschutz Verwendung findet. Dennoch gibt es Spezialisten, die sich daran angepasst haben und ausschließlich auf Rainfarn leben. Dazu gehören eine Reihe von Blattlausarten, wie z. B. die in dieser Arbeit verwendeten Aphidenarten *Uroleucon tanaceti* und *Macrosiphoniella tanacetaria*.

1.4 Zielsetzung und Fragestellungen

Ziel dieser Arbeit war es, den Einfluss von unterschiedlicher Stickstoffgabe auf die Aminosäurekonzentration und -zusammensetzung des Phloemsaftes von *T. vulgare* zu untersuchen, wobei die Akzeptanz zweier unterschiedlicher Blattlausarten auf die verschiedenen Pflanzenqualitäten geprüft werden sollte. Dazu sollten die monophagen Blattlausarten *U. tanaceti* und *M. tanacetaria* verwendet werden, wobei die erstgenannte ein Vergilben der Pflanze hervorruft, was die andere Art nicht vermag. Zudem sollte untersucht werden, ob die Blattläuse einen Unterschied im Aminosäureangebot der Pflanze wahrnehmen können, wie sie darauf reagieren und ob sie selbst eine Veränderung der Aminosäurezusammensetzung herbeiführen können.

In wissenschaftlichen Studien der Zoologie wurde *T. vulgare* häufig als Versuchspflanze verwendet (z. B. Keskitalo et al., 1998; Müller, 1999; Stadler et al., 2002; Stadler 2004). Im Mittelpunkt der Untersuchungen standen dabei oft die Blattläuse, die am Rainfarn saugen und mit Ameisen, welche den Honigtau dieser Aphiden als Nahrungsquelle nutzen, mutualistisch zusammenleben (Fischer et al., 2002, 2005; Woodring et al., 2004, 2007). Diese Arbeiten beschränkten sich vielfach auf die Beziehungen zwischen den Blattläusen und den Ameisen

und gingen von relativ gleichbleibenden Aminosäurekonzentrationen in Siebröhrenexsudaten aus. Eine Studie zur Aminosäure- und Zuckerzusammensetzung des Phloemsaftes von *T. vulgare* existiert bisher nicht (Wiedemann, 2005). Die vorliegende Arbeit soll diese Lücke schließen und somit dazu beitragen, die Interaktion zwischen Pflanzen und Tieren besser charakterisieren zu können. Dazu ist es entscheidend zu wissen, welche Auswirkungen das Stickstoffangebot auf den Phloemsaft der Pflanze hat und wie die Blattläuse darauf reagieren bzw. ob sie selbst einen Einfluss auf ihre Nahrungsquelle haben.

Zum detaillierten Bearbeiten dieses Themas wurden folgende Fragestellungen formuliert:

1. Welchen Einfluss hat die Gabe unterschiedlicher Stickstoffmengen auf die Aminosäurekonzentration und Aminosäurezusammensetzung des Phloemsaftes? Sind Änderungen in der Summe der Aminosäuren zu messen oder variiert der Anteil bestimmter Aminosäuren?
2. Wie stark schwanken die Werte der Aminosäurezusammensetzung einer Pflanze? Dazu sollte zum einen Phloemsaft eines gut exsudierenden Stilets über eine lange Zeitspanne regelmäßig analysiert werden und zum anderen Phloemsaft mehrerer Siebröhren eines Blattes gesammelt und untersucht werden.
3. Kann die monophage Blattlausart *U. tanaceti* den Aminosäuregehalt des Phloemsaftes oder dessen Zusammensetzung zu ihren Gunsten beeinflussen? Um dies zu überprüfen sollten Proben von *U. tanaceti* befallenen Pflanzen mit denen von *M. tanacetaria* gewonnenen Phloemsaftproben verglichen werden.
4. Zeigen die Blattlausarten Präferenzen für Pflanzen bestimmter Düngungsstufen? Welche Pflanzen werden bevorzugt und wie verhalten sich die Tiere, wenn sie gezwungen werden auf einer bestimmten Pflanze zu verbleiben? Wie unterscheidet sich das Such- und Saugverhalten auf den präferierten Pflanzen?
5. Welche pflanzenbeschreibenden Faktoren spiegeln den Grad der Stickstoffversorgung wider? Unterscheiden sich Frisch- und Trockengewicht von ober- und unterirdischen Pflanzenteilen, Blattfläche und C/N-Verhältnisse der unterschiedlich gedüngten Pflanzen voneinander?
6. Welche Ammonium- und Nitratbedingungen sind in Böden natürlicher Rainfarnstandorte zu finden? Wie gestaltet sich das C/N-Verhältnis der Blätter, verglichen mit denen, die im Gewächshaus mit Nährlösung angezogen wurden?

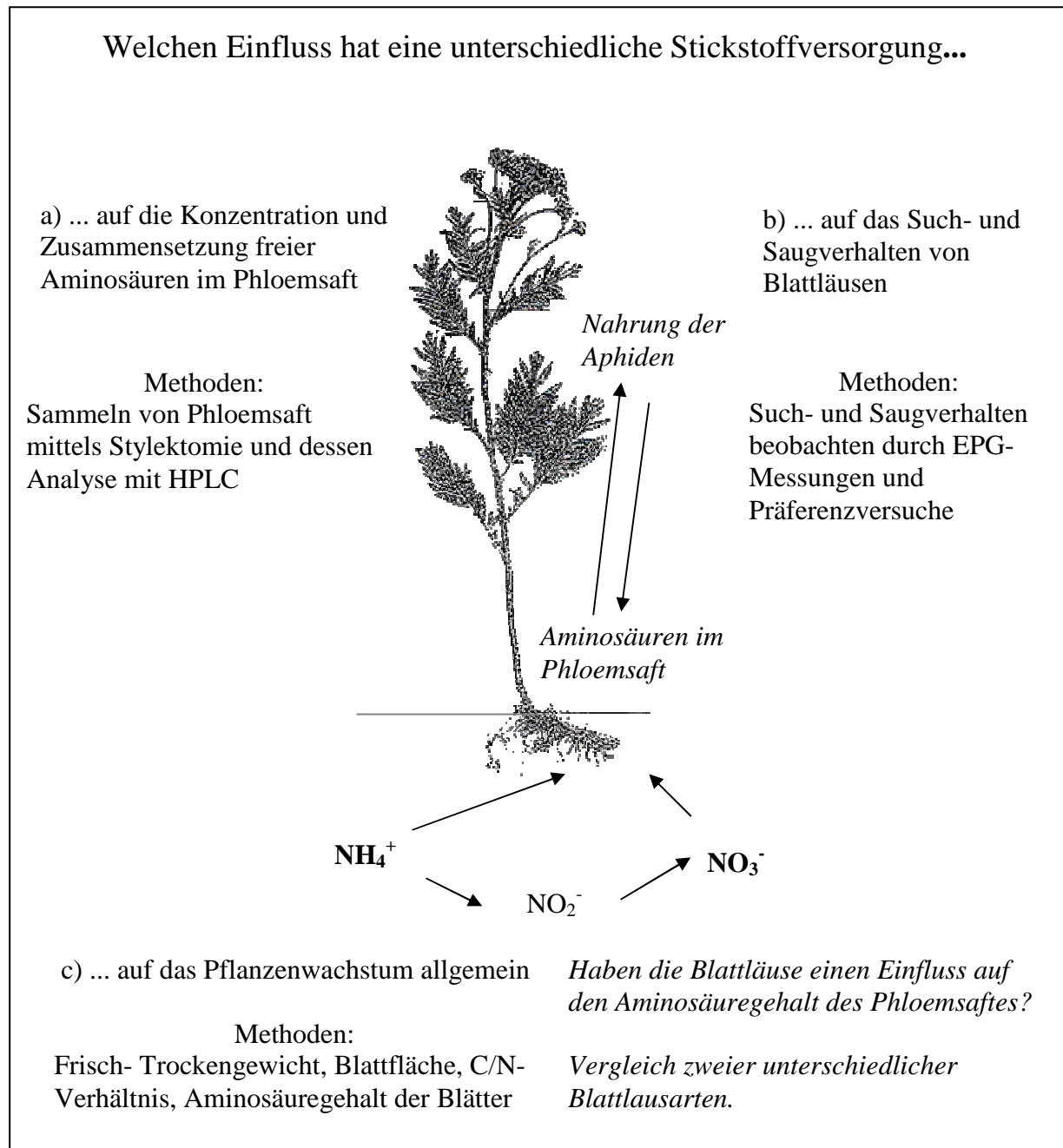


Abbildung 1: Übersicht über die Zusammenhänge der in dieser Arbeit untersuchten Fragestellungen und methodische Bearbeitungsmöglichkeiten.

2. Material und Methoden

2.1 Die Versuchs- und Futterpflanze Rainfarn (*Tanacetum vulgare* L.)

Tanacetum vulgare (L.) gehört zu den Korbblütengewächsen (Fam. Asteraceae) und zeichnet sich durch auffällig gelbe Blüten aus, die köpfchenförmig als Doldenrispen angeordnet sind (Schmeil & Fitschen, 1993). Die Blätter dieser krautigen, perennierenden Pflanze sind einfach fiederteilig mit tief gesägten Fiedern und erinnern an Farne, worauf sich ihr deutscher Name Rainfarn bezieht. Diese Pflanze kommt sehr häufig an Weg- und Waldrändern mit mäßigem Stickstoffgehalt vor und erreicht eine Höhe von 0,4 - 1,5 m. Für die Anzucht von Versuchspflanzen wurde im Januar 2005 auf dem Universitätsgelände in der Nähe des Botanischen Gartens das Rhizom einer Pflanze auf einer Fläche von 40 x 40 cm ausgegraben. Aus diesem Rhizom wurden mehrere Mutterpflanzen herangezogen (Abbildung 2a), aus denen wiederum weitere Jungpflanzen für Versuchszwecke gewonnen wurden. Neben diesen Versuchspflanzen wurden weitere Pflanzen für die Aphidenzuchten benötigt. Diese wurden sowohl aus Samen, als auch aus Stecklingen der Versuchspflanzen in Gartenerde angezogen. Teilweise wurden auch nicht mehr benötigte Versuchspflanzen den Blattläusen als Futter zur Verfügung gestellt. Die Anzucht der Versuchspflanzen fand in einem abgetrennten Klimaabteil eines der Gewächshäuser der Universität Bayreuth bei einer Temperatur von $18 \pm 2^\circ\text{C}$ und Langtagbedingungen (16:8 L:D) statt, während die Anzucht der Futterpflanzen in insektendichten Käfigen, ebenfalls im Gewächshaus, bei $17 \pm 3^\circ\text{C}$ erfolgte.

2.2 Nachzucht von Versuchspflanzen

Aufgrund der Fragestellung dieser Arbeit war es wichtig, genetisch identische Pflanzen für die Gabe von unterschiedlichen N-Konzentrationen zu verwenden. Aus diesem Grund wurden junge Versuchspflanzen stets durch vegetative Vermehrung aus den o. g. Mutterpflanzen gewonnen, wobei zwei unterschiedliche Methoden verwendet wurden. Zum einen wurden unverholzte Sprosssteile der Mutterpflanzen abgeschnitten, in Pflanzentöpfe mit Vermiculit gegeben und für ca. vier Wochen zum Bewurzeln in eine geschlossene Kammer (27°C , ca. 80% relative Luftfeuchte, Sprühnebel in 6 min Intervallen) des Gewächshauses gestellt. Zeigten die Stecklinge eine ausreichende Bewurzelung, so wurden sie nach einer Akklimatisationsphase von einer Woche im Warmhaus des Gewächshauses ($27 \pm 3^\circ\text{C}$, ca. 70% relative Luftfeuchte) in das oben beschriebene Klimaabteil gestellt und mit

entsprechender Nährlösung versorgt. Die zweite Variante der Nachzucht stellte die Vermehrung über Rhizome dar. Dazu wurden die oberirdischen Pflanzenteile komplett entfernt und der Wurzelballen zerteilt. Die einzelnen Rhizomstücke wurden in Pflanzenschalen mit Gartenerde gelegt und überschichtet. Nachdem sich aus diesen Rhizomen junge Pflanzen entwickelt hatten (6 - 7 Wochen) wurden diese einzeln in Pflanzentöpfe mit Vermiculit (11 x 11 x 12 cm) gepflanzt und mit Nährlösung versorgt. Die Vermehrung über die Rhizome verlief meist problemlos, während es bei der Stecklingsvermehrung teilweise zum Absterben junger Sprosse kam. Die Mehrheit der verwendeten Versuchspflanzen ist daher aus Rhizomstücken angezogen worden.

2.3 Zusammensetzung der Nährlösungen

Die Nährlösungen mit denen die Versuchspflanzen angezogen wurden enthielten alle für das Pflanzenwachstum benötigten Makro- und Mikronährelemente, wobei sie nur durch unterschiedliche Ammoniumnitratkonzentrationen (NH_4NO_3) abgewandelt wurden. Für die Zusammensetzung der Makronährstoffe wurde die Knop'sche Lösung leicht verändert. Diese setzt sich ursprünglich aus Calciumnitrat, Magnesiumsulfat, Kaliumhydrogenphosphat, Kaliumnitrat und einer Spur von Eisenchlorid zusammen (Schropp, 1951; Jung, 1972). Um den Stickstoffanteil der Nährlösung variieren zu können, wurde das Nitrat durch andere Elemente ersetzt. Als Stickstoffquelle wurde NH_4NO_3 den Nährlösungen in den Konzentrationen 1 mM, 3 mM, 6 mM und 12 mM zugegeben (Tabelle 1). Die Zusammensetzung der Mikronährstoffe erfolgte nach Epstein (1972).

Tabelle 1: Zusammensetzung der verwendeten Nährlösungen. Makronährstoffe nach Knop'scher Lösung (modifiziert), Mikronährstoffe nach Epstein (1972). Der Anteil an Stickstoff wurde variiert, indem NH_4NO_3 in den Konzentrationen 1 mM, 3 mM, 6 mM und 12 mM zugegeben wurde.

Makronährelemente		Mikronährelemente	
CaSO_4	4 mM	KCl	50 μM
MgSO_4	2 mM	H_3BO_3	20 μM
K_2HPO_4	3 mM	$\text{MnSO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$	2 μM
NH_4NO_3	1, 3, 6, 12 mM	$\text{ZnSO}_4 \times 7 \text{H}_2\text{O}$	2 μM
Fe-EDTA	0,09 mM	$\text{CuSO}_4 \times 5 \text{H}_2\text{O}$	0,5 μM
		MoO_3	0,5 μM
pH 6,0 mit 7% H_2SO_4			

2.4 Gießschemata

Die Pflanzen wurden ab dem Umstellen in das Klimaabteil mit Nährlösung versorgt. Danach richtete sich das Volumen der Nährlösungen nach dem Entwicklungsstand und dem Bedarf der Pflanzen. Begonnen wurde immer mit 50 ml Nährlösung pro Tag und Pflanze, wobei nur jeden zweiten Tag gegossen wurde. Mit voranschreitender Entwicklung wurde das Volumen auf 100 ml, 150 ml und 200 ml pro Tag und Pflanze erhöht. Der Zeitpunkt dafür wurde dem Bedarf der Pflanzen angepasst, wobei dann die Nährlösungsmenge bei allen vier Versuchsansätzen heraufgesetzt wurde. Aufgrund der unterschiedlichen Entwicklung der verschiedenen N-gedüngten Pflanzen konnte ab einem bestimmten Pflanzenalter beobachtet werden, dass der Wasserbedarf der Pflanzen stark voneinander abwich. Um Trockenstress zu vermeiden, wurden einzelne Pflanzen bei Bedarf in den nährlösungsfreien Tagen mit Wasser versorgt. Die Nährlösungen bzw. das Wasser wurden immer morgens direkt in die Untersetzer gegossen, in denen alle Pflanzen eines Versuchsansatzes standen (Abbildung 2b).



Abbildung 2: a) Rainfarmpflanzen angezogen aus einem ausgegrabenen Rhizom. Von diesen Mutterpflanzen wurden alle Versuchspflanzen durch vegetative Vermehrung gewonnen. b) Anordnung der Jungpflanzen im Klimaabteil des Gewächshauses. In jedem Untersetzer stehen die Pflanzen, welche mit einem bestimmten Nährlösungsansatz angezogen wurden.

2.5 Verwendete Blattlausarten

Bei den in dieser Arbeit verwendeten Aphidenarten *Uroleucon tanacetii*, *Macrosiphoniella tanacetaria* und *Metopeurum fuscoviride* handelt es sich um holozyklische, monözische (monophage) Blattlausarten an *T. vulgare*.

Als holozyklisch bzw. vollständigen Zyklus bezeichnet man den Entwicklungszyklus von Blattläusen, bei dem es zur Ausbildung von Geschlechtstieren kommt. Diese bilden sich bei kürzerer Lichtdauer, wie z. B. im Herbst. Nach vollzogener Begattung kommt es zur Ablage von Eiern, welche den Winter überdauern (Dixon, 1976). Im Frühjahr schlüpfen aus den Eiern ausschließlich Weibchen, die sich dann bis zur Ausbildung neuer Sexuales im Herbst parthenogenetisch fortpflanzen und lebendgebärend sind (Abbildung 3). Neben dem Sexualdimorphismus zeigen Blattläuse zudem zwei unterschiedliche Morphe. So existieren neben den ungeflügelten (aptere) Formen auch geflügelte (alate) Tiere. Die meisten Blattläuse sind während der parthenogenetischen Fortpflanzungsphase ungeflügelt, wobei geflügelte Vertreter gebildet werden, wenn ein Wirtswechsel ansteht. Dieser kommt z. B. bei diözischen Arten vor, die zwischen krautigen Sommer- und holzigen Winterwirten unterscheiden. Lässt die Pflanzenqualität nach oder wird die Blattlausdichte zu hoch, wechseln auch monözische Arten ihre Wirtspflanze. Dabei werden allerdings immer Pflanzen der gleichen Art neu besiedelt.

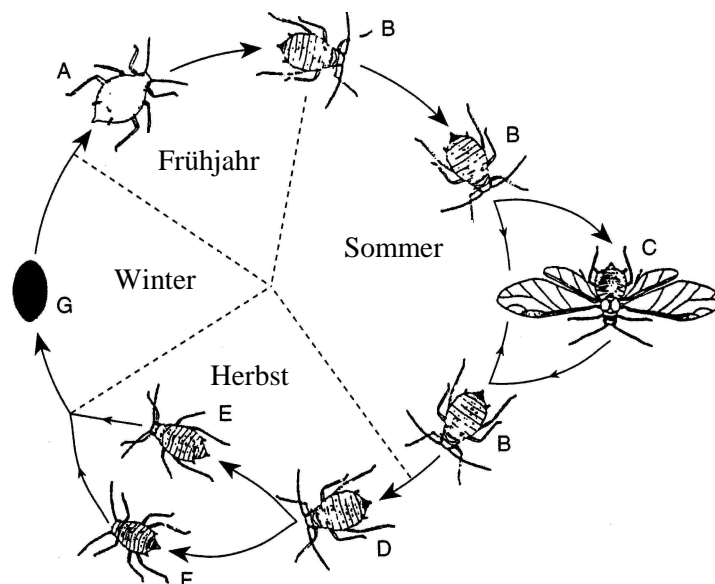


Abbildung 3: Entwicklungszyklus einer monözischen Blattlausart im Jahresverlauf. A: Stammutter, B: Aptere, C: Alate, D: Gynoparae, E: Weibchen, F: Männchen, G: Ei (verändert nach Jones, 1942).

2.5.1 *Uroleucon tanacetii*

U. tanacetii (Mordv.) ist eine auffällig rot gefärbte Aphidenart (Abbildung 4a), die bevorzugt an den Unterseiten von älteren Rainfarnblättern saugt, wobei diese Blätter nach Befall schnell vergilben und absterben. Es ist bisher nicht untersucht, ob bestimmte Substanzen im Speichel dieser Art eine frühzeitige Seneszenz verursachen oder durch die Blattläuse übertragene Viren dafür verantwortlich sind. Diese Art lebt nicht in Symbiose mit Ameisen und gibt nur geringe Mengen Honigtau ab, welchen sie mit ihren Hinterbeinen wegschleudert. Die Tiere vermehren sich bei günstigen Umweltbedingungen sehr schnell was ihre Nachzucht und Haltung problemlos macht. Sie wurden aus verschiedenen Gründen als Versuchstiere ausgewählt. Zum einen macht sie ihre Vergilbung auslösende Fähigkeit in Bezug auf mögliche Beeinflussung der Phloemsaftzusammensetzung sehr interessant, zum anderen sind sie aufgrund ihrer Größe und der Stilettstellung während des Saugens sowohl für die Stylektomie, als auch für die EPG-Messungen sehr gut geeignet.

2.5.2 *Macrosiphoniella tanacetaria*

M. tanacetaria (Kalt.) ist eine monophage, nicht seltene Blattlausart an *T. vulgare*, die vorübergehend auch an den sehr nah verwandten Arten *Chrysanthemum parthenium* und *Artemisia campestris* gefunden werden kann (Börner, 1952). Die grüngrau gefärbten Tiere (Abbildung 4b) saugen bevorzugt an jungen Trieben und der Unterseite ausgewachsener Blätter. Die befallenen Blätter zeigen hier allerdings kein frühzeitiges Vergilben. Bei Berührung der Pflanze reagieren sie mit einem ausgeprägten Fallreflex und laufen schnell davon. Auch sie werden in der Regel nicht von Ameisen besucht und geben ebenfalls nur wenig Honigtau ab, der von der Kolonie weggeschleudert wird. Da die Lage der Stechborsten während des Saugens der Tiere gut abgeschätzt werden kann, eignet sich auch diese Art sehr gut für die Stylektomie. Diese Aphiden sind zudem gut für die EPG-Messungen geeignet, da sie relativ groß sind und über eine gewisse Stresstoleranz verfügen.

2.5.3 *Metopeurum fuscoviride*

M. fuscoviride (Stroyan) saugt an den jungen Trieben und Blütenständen von Rainfarn, im Herbst auch auf den Unterseiten von bodennahen Blättern (Börner, 1952). Die Blattläuse geben dabei große Mengen von Honigtau ab, welcher an der Cauda der Tiere verbleibt oder

am Pflanzenstängel abgestreift wird. Der Honigtau kann zum Verkleben der Kolonie führen, wenn er nicht von Ameisen abgesammelt wird. Daher lebt diese Blattlausart in enger Symbiose mit Ameisen, was die Haltung und Zucht, besonders in den „ameisenfreien“ Wintermonaten, erschweren kann. Die Larven von *M. fuscoviride* sind grün, während die adulten Tiere rotbraun und schwarz gefärbt sind (Abbildung 4c). Die Blattläuse wurden in erster Linie an die Versuchspflanzen angesetzt, um von ihnen Honigtauproben abnehmen zu können, welche dann mit den zuvor gesammelten Phloemsaftproben der Pflanzen verglichen werden konnten.

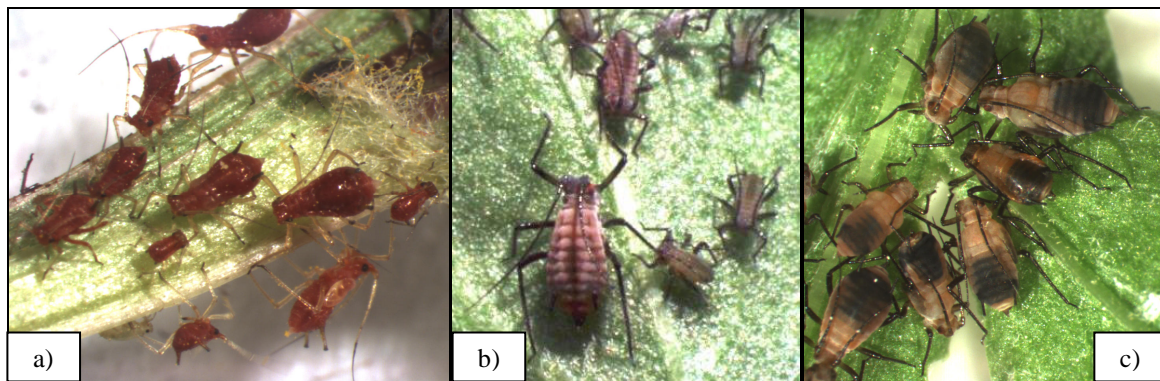


Abbildung 4: Verwendete Blattlausarten a) *Uroleucon tanacetii* (Adulte und Larven), b) *Macrosiphoniella tanacetaria* (Adulte und Larven), c) *Metopeurum fuscoviride* (Adulte)

2.6 Gewinnung von Phloemsaft

Das direkte Sammeln von Phloemsaft durch Anritzen von Pflanzenstängeln ist nur bei wenigen Pflanzenarten (z. B. *Ricinus communis* L.) möglich. Die meisten Pflanzen reagieren auf Verletzung der Leitgefäße sofort mit einem Ca^{2+} induzierten Wundverschluss, wobei die verletzten Siebelemente mit Callose oder speziellen Proteinen verstopft werden. Auf diese Weise kann ein „Ausbluten“ der Leitgefäße verhindert werden. Bei der Stylektomie oder Aphidenteknik nutzt man die Fähigkeit der Blattläuse, diesen Wundverschluss zu unterdrücken, um Phloemsaft sammeln zu können. Diese Fähigkeit wird auf unterschiedliche Strategien zurückgeführt. Zum einen ist der Abfall des Turgordruckes, welcher eine Verletzung des Gewebes signalisiert, im Falle einer Penetration durch das Stilett einer Blattlaus sehr gering. Zudem kommt hinzu, dass die Blattläuse in die angestochene Siebröhre Speichel abgeben, der Proteine enthält, welche den Ca^{2+} Haushalt der Siebröhren beeinflussen und somit die Wundverschlussreaktion verhindern können (Will, 2007). Aufgrund dieser Tatsachen ist es den Blattläusen möglich, Phloemsaft über eine lange Zeit hinweg

aufzunehmen, ohne dass es zu Verstopfungen der Siebelemente kommt. Bei der Stylektomie wird einer mit der Stilettspitze im Phloem befindenden Blattlaus das Stilett entweder mechanisch mittels eines Rasierklingsplitters (Kennedy & Mittler, 1953), thermisch mit Hilfe einer Radiofrequenz-Sonde (Downing & Unwin, 1977; Unwin, 1978) oder durch Lasertechnik (Barlow & McCully, 1972) abgetrennt. Der unter Druck stehende Phloemsaft tritt dann aus dem verbleibenden Stilettstumpf heraus und kann gesammelt werden.

2.6.1 Vorbereitung der Pflanze und Ansetzen der Blattläuse

Das Sammeln von Phloemsaft von einer mit Nährlösung angezogenen Versuchspflanze wurde in einem gesonderten, störungsfreien Raum der Universität Bayreuth vorgenommen. Dazu wurde die zu beprobende Pflanze auf eine schwingungsgedämpfte Platte vor einem waagrecht stehenden Binokular (Leica MZ 125, 8 - 100fache Vergrößerung) gestellt und ein voll entwickeltes Blatt aus dem mittleren bis oberen Drittel der Versuchspflanze ausgewählt. Als Halterung des Blattes diente eine 10 x 11 cm große, in einem Magnetstativ eingespannte Plastikscheibe, welche senkrecht bis leicht nach hinten gekippt positioniert wurde. Das ausgewählte Blatt wurde mit lösungsmittelfreiem Klebeband (Scotch Magic, 19 mm) auf der Plastikscheibe befestigt, sodass die Mittelrippe sowie 2/3 des Blattes frei blieben. Auf das so vorbereitete Blatt wurden ca. 50 meist adulte und ungeflügelte Blattläuse gesetzt. Eine Petrischale, deren Boden ausgeschnitten und durch Gaze ersetzt war, diente als Käfig, welcher mit Klammern an der Plastikscheibe befestigt wurde. Um die Pflanze möglichst nicht zu verletzen wurde der Rand der Petrischale mit Knetgummi ummantelt. Der Käfig verblieb für mindestens 12 Stunden (meist über Nacht) an der Pflanze und zwang damit die Blattläuse, an dem ausgewählten Blatt zu verbleiben und dort zu saugen.

2.6.2 Stylektomie und Sammeln von Phloemsaft

Die Stylektomie wurde mittels Radiofrequenz-Sonde durchgeführt, wobei Blattläuse ausgewählt wurden, die möglichst ruhig auf der Pflanze saßen und ihre Mundwerkzeuge tief im Pflanzengewebe versenkt hatten. Die Sonde, deren Aufbau in Abbildung 5a dargestellt ist, besteht nach Downing & Unwin (1977) aus einem biegbaren, elektrolytisch zugespitzten Wolfram-Draht (siehe Kapitel 2.6.3), welcher von einer Nadelhalterung gehalten wird, einem Plexiglasstab, der mit Kupferdraht umwickelt ist, einem Kondensator und einer Neonlampe. Der Wolfram-Draht ist über die Induktionsschleife mit der Radiofrequenz-Sonde verbunden

und kann über einen Fußschalter aktiviert werden. Die Radiofrequenz-Sonde wurde in einen Mikromanipulator (Leitz Wetzlar) eingespannt, mit dessen Hilfe sie in die gewünschte Position vor dem Stilett der Blattlaus gebracht werden konnte. Wenn dies ruhig und vorsichtig vorgenommen wurde, bemerkte die Blattlaus die sich annähernde Sonde nicht. Berührte die Spitze der Wolfram-Nadel das Stilett der Blattlaus wurde gleichzeitig die Sonde über den Fußschalter aktiviert. Der von der Radiofrequenz-Quelle (RF Microcautery Unit for Stylectomy, Michael Thorpe, Forschungszentrum Jülich) abgegebene Impuls (25 W, 2s) führte zu einer Hitzeentwicklung an der Spitze der Nadel, durch welche das Stilett abgetrennt wurde. In der Regel zog sich die Blattlaus nach dem Durchtrennen ihres Stiletts zurück und der Stilettstumpf verblieb in der Pflanze. Wenn das Insekt vor dem Schnitt Siebröhrensaft aufgenommen hatte, so trat dieser aus dem Stilettstumpf heraus und konnte mit einer 500 nl Glaskapillare (Roth) aufgenommen werden. Um auch an schwer zugänglichen Stellen des Blattes sammeln zu können, hatte es sich als hilfreich herausgestellt, die Glaskapillaren am vorderen Ende leicht zuspitzen zu lassen (Glasbläserwerkstatt, Universität Bayreuth). Als Halterung der Kapillare diente ein ca. 18 cm langer Metallstift mit anmontierter Krokodilsklemme. Diese Halterung wurde in den Mikromanipulator eingespannt, mit dessen Hilfe die Kapillare direkt über den Stilettstumpf gestülpt werden konnte. Bei anhaltender Exsudation wurde der Phloemsaft durch die Kapillarkräfte in die Kapillare hineingesaugt. Die Kapillare verblieb mehrere Stunden in dieser Position bis die Exsudation zum Erliegen kam oder ein Phloemsaftvolumen von mindestens 200 nl erreicht war. Um Verdunstungseffekte zu minimieren wurde ein elektronischer Ultraschall-Luftbefeuchter (Burg Honeywell, Ultrastar, BH-860E) eingesetzt, der auf das exsudierende Blatt gerichtet war und die Luftfeuchtigkeit auf 60 - 70% erhöhte. Das Volumen der Proben wurde durch Abmessen des gefüllten Anteils in der Kapillare bestimmt. Danach wurden die Proben bei -20°C eingefroren und im Gefrierschrank gelagert. Vor weiteren Analysen wurden die Kapillaren in H₂O_{bidest.} ausgeblasen, wobei die verwendete Menge Wasser einer Verdünnung von 1:100 bzw. 1:200 entsprach.

2.6.3 Anspitzen der Wolfram-Nadel

Das Anspitzen der Wolfram-Nadel wurde elektrolytisch nach Brady (1965) durchgeführt. Dazu wurde eine NaOH-Lösung verwendet, in die eine Kohlenstoffelektrode eingetaucht wurde, ebenso wie die in der Nadelhalterung eingespannte Wolfram-Nadel (Abbildung 5b). Dabei wurde sowohl an die Nadel, als auch an die Kohlenstoffelektrode ein Strom angelegt.

Als Stromquelle diente die Radiofrequenz-Quelle, die speziell für diese Funktion zwei Anschlussstellen aufweist. Durch gleichmäßiges Eintauchen und wieder Hochziehen der Nadel wird Material des Wolfram-Drahtes abgeätzt. Die Spitze, die dabei stets am längsten dem Ätzprozess ausgesetzt ist, wird somit sehr fein. Das Eintauchen und Hochziehen wurde von einer motorbetriebenen Vorrichtung (Eigenbau der Mechanikwerkstatt, Universität Bayreuth) vorgenommen.

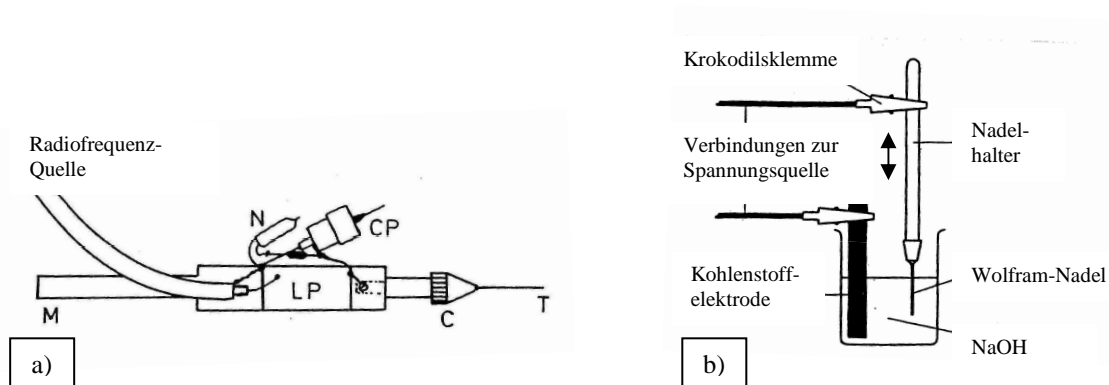


Abbildung 5: a) Aufbau der Radiofrequenz-Sonde: C: Nadelhalter, CP: konzentrischer Kondensator, LP: Plexiglasstab mit Kupferdraht, M: Mikromanipulator, N: Neonlampe, T: Wolfram-Nadel (verändert nach Unwin, 1978); b) Vorrichtung zum elektrolytischen Anspitzen der Wolfram-Nadel (verändert nach Brady, 1965)

2.7 Aminosäureanalysen mittels HPLC (High Performance Liquid Chromatography)

Die qualitative und quantitative Bestimmung der Aminosäuren wurde nach Schurr und Gebauer (1989) mittels HPLC vorgenommen. Dazu wurden folgende Geräte eingesetzt: HPLC-Pumpen (420, Kontron Instruments), Gravitationsmischer (M 800, Kontron Instruments), automatischer Probengeber (Autosampler 460, Kontron Instruments), Säulenofen (830, Kontron Analytical) und UV Detektor (SFM 25, Kontron Instruments). Die Auswertung erfolgte mit dem Datensystem D450 (MS-DOS), welches auf dem zur Anlage gehörenden Computer installiert war. Weiterhin wurde eine Hypersil 5 μm ODS Hauptsäule (250 x 4,6 mm, VDS Optilab) sowie eine selbst gefüllte Vorsäule (Füllmaterial: LiChrosorb RP-18, Merck) verwendet.

Bei der HPLC handelt es sich um ein chromatographisches Trennverfahren. Das System basiert auf zwei unterschiedlichen Schritten. Zum einen die Trennung eines Stoffgemisches mit Hilfe einer HPLC-Säule und zum anderen die Derivatisierung, welche für die Detektion der in den Proben enthaltenen Substanzen nötig ist. Die Reihenfolge dieser beiden Schritte ist vom verwendeten System abhängig. In dieser Arbeit wurde eine Vorsäulenderivatisierung mit

ortho-Phthaldialdehyd (OPA) vorgenommen. Dieser reagiert mit der primären Aminogruppe (Abbildung 6), wobei ein fluoreszierender Komplex entsteht.

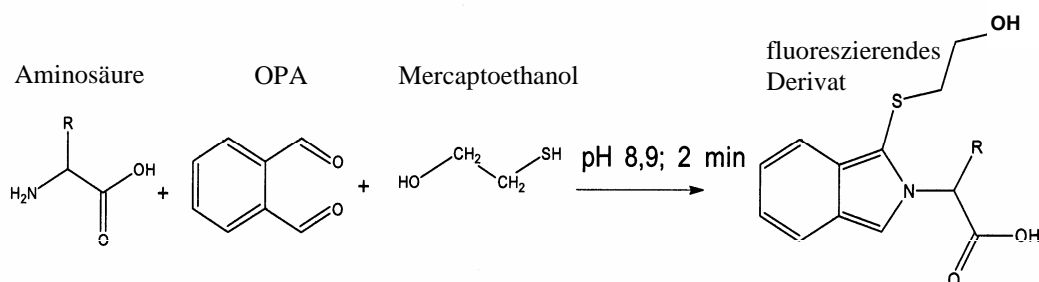


Abbildung 6: Derivatisierung von Aminosäuren durch o-Phthaldialdehyd (OPA) und Mercaptoethanol, wobei ein fluoreszierendes Derivat entsteht (verändert nach Joengebloed, 2003).

Das Derivatisierungsreagenz OPA wurde aus den beiden Komponenten OPA 1 und OPA 2 (Tabelle 2) unmittelbar vor der Analyse zusammengemischt. Das Mischen dieses Reagenzes mit den Proben erfolgte hingegen automatisch mittels Probengeber, der 80 μl OPA mit 40 μl der Probe vermengte und das Reaktionsgemisch nach 2 min Reaktionszeit in das System einspritzte.

Tabelle 2: Zusammensetzung der Derivatisierungsreagenzien (OPA 1 und OPA 2). Beide Lösungen wurden auf Vorrat angefertigt, aber erst unmittelbar vor der Analyse in den angegebenen Volumina (ausreichend für 5 Messungen) zusammenpipettiert.

	OPA 1	OPA 2
Zusammensetzung	99 g Borsäure, 52 g KOH, 2 ml Brij 35 ad 1 Liter, pH 10,5	800 mg o-Phthaldialdehyd in 10 ml Ethanol + 2 ml β -Mercaptoethanol
Verwendete Volumina für 5 Messungen	500 μl	30 μl

Für die Auftrennung des Stoffgemisches wird die Probe von der mobilen Phase (Laufmittel A und B) über die stationäre Phase (Hauptsäule) gepumpt, wobei die darin enthaltenen Stoffe aufgrund ihrer Polarität unterschiedlich lange benötigen, bis sie wieder von der Säule herunterkommen. Die Zusammensetzung der benutzten Laufmittel ist in Tabelle 3 aufgeführt. Bevor die Lösungen verwendet werden konnten, wurde Laufmittel A filtriert (Vakuumfiltriergerät mit Cellulose Acetat Filter, Porengröße 0,45 μm , Sartorius) und beide

Lösungen 10 min im Ultraschallbad (Branson 3200) entgast. Während der Analyse änderte sich der Gradient der Lösungsmittel automatisch (Tabelle 4).

Tabelle 3: Zusammensetzung der verwendeten Laufmittel. Vor dem Benutzen wurde Laufmittel A filtriert und beide Lösungen 10 min im Ultraschallbad entgast.

Laufmittel A:	17,01 g Na-Acetat-Trihydrat + 2,5 l H ₂ O _{bidest.} (ph 6,8 mit verdünnter H ₃ PO ₄)
Laufmittel B:	2 l Methanol (HPLC Gradient Grade; Roth) + 62 ml Tetrahydrofuran (Roth)

Tabelle 4: Zeitlicher Verlauf des Laufmittelgradienten während einer HPLC-Messung.

Zeit [min]	Fluss [ml/min]	A [%]	B [%]
0	1	95	5
10	1	90	10
15	1	82	18
23	1	78	22
38	1	65,5	34,5
40	1	56	44
52,5	1	53,5	46,5
60	1	43	57
63	1	5	95
65	1	0	100
70	1	95	5

Der Detektor stellt die fluoreszierenden Derivate graphisch als Peaks dar, welche in ihrer Größe dem Ausmaß des Signals entsprechen. Zur Identifizierung der in den Proben enthaltenen Aminosäuren war es nötig, deren Retentionszeiten mit denen eines externen Aminosäurestandards zu vergleichen. Dafür wurde ein Aminosäuregemisch bekannter Konzentration eingesetzt (10 µM, 20 µM oder 40 µM), der zudem auch der Quantifizierung der Aminosäuren diente. Die Peakflächen der Proben wurden manuell mit denen des Standards abgeglichen und mit den Konzentrationen der darin enthaltenen Aminosäuren ins Verhältnis gesetzt. Daraus ergab sich die Berechnungsgrundlage für die Bestimmung der Aminosäurekonzentrationen der Proben. Folgende Aminosäuren konnten mit dieser Methode identifiziert werden: Alanin, Arginin, Asparagin, Aspartat, Glutamat, Glutamin, Glycin,

Isoleucin, Leucin, Lysin, Phenylalanin, Serin, Threonin, Tyrosin, Valin, α - und γ -Aminobuttersäure sowie reduziertes Glutathion. Methionin und Tryptophan konnten nicht getrennt werden und wurden als ein gemeinsamer Peak dargestellt. Es war mit Hilfe dieser Methode nicht möglich, Prolin und Cystein zu erfassen und Histidin brachte keinen definierten Peak hervor und konnte daher nicht quantifiziert werden.

2.8 Bestimmung der Saccharosekonzentration im Phloemsaft

Die Bestimmung der Saccharosekonzentration im Phloemsaft erfolgte enzymatisch mit Hilfe eines gekoppelten optischen Tests (Bergmeyer & Bernt, 1974). Dieser basiert auf der Entstehung von NADPH bei der Umsetzung von Glucose zu 6-Phosphogluconat. Um diesen Test anwenden zu können, ist es nötig, die Saccharose in ihre Bestandteile Glucose und Fructose aufzuspalten. Diese reagieren, wie in Abbildung 7 dargestellt, zu 6-Phosphogluconat und NADPH. Pro Mol umgesetzter Glucose wird ein Mol NADPH gebildet, welches sich im Spektralphotometer bei 340 nm messen lässt. Da Saccharose aus Fructose und Glucose im Verhältnis 1:1 zusammengesetzt ist, kann die Saccharosekonzentration des Phloemsaftes aus den errechneten Glucose- und Fructosekonzentrationen abgeleitet werden.

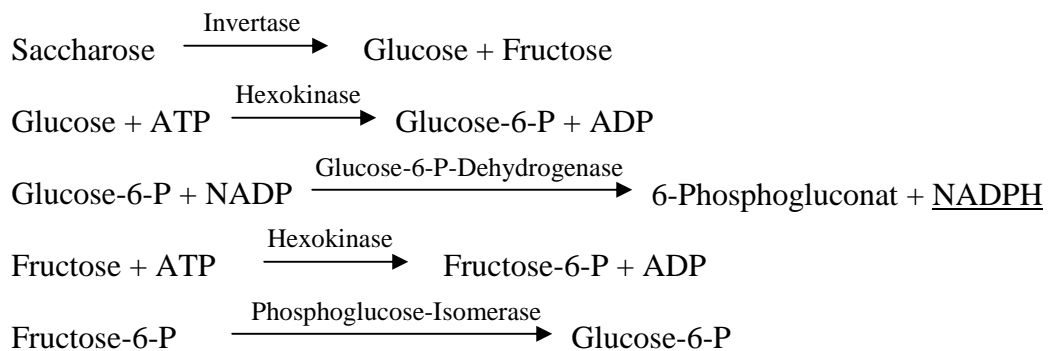


Abbildung 7: Chemische Reaktionen während der Saccharosebestimmung

Die Bestimmung der Saccharosekonzentration wurde auf 96-well Mikrotiterplatten (Nune, Maxisorp) vorgenommen. Für die Spaltung der Saccharose wurden die in Tabelle 5 aufgeführten Reagenzien zusammenpipettiert. Nach einer Inkubationszeit von 30 min im Dunkeln wurde mit dem zweiten Reaktionsansatz (Tabelle 6) fortgefahren. Dieser startet mit der Zugabe des Master-Mix und dem Enzym Hexokinase (Tabelle 6, Reaktionsschritt 1), welches die Umwandlung von Glucose zu Glucose-6-Phosphat katalysiert. Die Extinktion dieses Reaktionsgemisches wurde als Blind-Wert verwendet. Als nächstes wurde das Enzym

Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase dazugegeben (Tabelle 6, Reaktionsschritt 2), welches 6-Phosphogluconat und NADPH entstehen lässt. Nach einer Inkubationszeit von 10 min im Dunkeln wurde die Extinktion dieser Lösung gemessen. Aus diesem Wert konnte die Konzentration der Glucose errechnet werden. Im letzten Schritt (Tabelle 6, Reaktionsschritt 3) wurde durch Zugabe des Enzyms Phosphoglucose-Isomerase die im Ansatz enthaltene Fructose während einer weiteren Inkubationszeit von 30 min im Dunkeln in Glucose umgewandelt. Die neu entstandene Glucose reagierte, wie oben beschrieben, mit denen im Reaktionsansatz vorhandenen Enzymen. Das dabei erneut gebildete NADPH wurde ebenfalls photometrisch erfasst. Es wurden jeweils drei Ansätze pro Probe gemessen und deren Mittelwert zur Berechnung verwendet. Zusätzlich wurde bei jedem Messzyklus (27 Proben) eine Eichgerade aus Saccharoselösungen mit Konzentrationen zwischen 62,5 μM und 2 mM erstellt. Mit Hilfe der Funktionsgleichung dieser Eichgeraden wurden die Glucose- und Fructosekonzentrationen der Proben bestimmt.

Tabelle 5: Reaktionsansatz zur Spaltung der Saccharose in Glucose und Fructose. Die angegebenen Mengen beziehen sich auf je eine Reaktionseinheit einer Mikrotiterplatte, wobei das Endvolumen jeweils 50 μl betrug.

Volumina	Reagenzien
5 μl	MES-KOH-Puffer, pH 5,5 (20 mM)
1 μl	Invertase (2,1 U)
1 μl / 10 μl	Probe / Standard
43 μl / 34 μl	H ₂ O bidest.

Tabelle 6: Reaktionsansatz zur Bestimmung der Glucose durch einen gekoppelten optischen Test. Die angegebenen Mengen beziehen sich auf je eine Reaktionseinheit einer Mikrotiterplatte.

Reaktions-schritt	eingesetzte Reagenzien pro Reaktionseinheit	Zusammensetzung
1	150 μl Master-Mix:	100 μl Tricin-NaOH-Puffer, pH 8 (100 mM)
		20 μl MgCl ₂ (50 mM)
		5 μl ATP/NADP (40 mM/20 mM)
		25 μl H ₂ O bidest
	0,5 μl Hexokinase (2,8 U/ μl)	

2	0,5 µl Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase (0,14 U/µl)	
3	0,5 µl Phosphoglucose-Isomerase (7,0 U/µl)	

2.9 Untersuchungen zu Verdunstungseffekten von künstlichem Phloemsaft

Um das Ausmaß der Verdunstung gesammelter Phloemsaftproben und damit die Konzentrierung der Inhaltsstoffe abschätzen zu können, wurde ein künstlicher Phloemsaft mit einer Aminosäurekonzentration von 1 M und Saccharosekonzentrationen von 0,5; 1; 2; 4 M hergestellt. Stellvertretend für die Gesamtheit der Aminosäuren wurde Glutamat verwendet. Mit diesem künstlichen Phloemsaft wurde je eine 500 nl Glaskapillare gefüllt und diese unter den im Stylektomieraum herrschenden Bedingungen (Raumtemperatur, variierende Luftfeuchtigkeit) belassen. In festgelegten Zeitabständen (15 min bis 24 Stunden) wurde das Volumen in den Kapillaren bestimmt und der Verdunstungsverlust berechnet. Dieser Versuch wurde mehrmals durchgeführt.

2.10 Sammeln von Honigtau bei *Metopeurum fuscoviride*

Parallel zum Sammeln von Phloemsaft wurde bei einigen Pflanzen zusätzlich Honigtau von *M. fuscoviride* gesammelt. Dazu wurde diese Blattlausart an ein exsudierendes Blatt gesetzt und während der gesamten Exsudationsdauer dort belassen. Am Ende der Sammelzeit wurden die Tiere vom Blatt abgenommen und auf eine Ansaugvorrichtung (siehe Kapitel 2.13.1) gesetzt. Wiederholtes Antippen mit einer 500 nl Glaskapillare am Hinterleib führte zur Abgabe von Honigtautropfen, welche direkt mit der Kapillare aufgesogen wurden. Es wurde der Honigtau mehrerer Tiere benötigt, um die Mindestmenge von 300 nl zu erreichen. Das Volumen des Honigtaus wurde durch Abmessen des Kapillareninhaltes bestimmt und diese bis zur weiteren Aufbereitung im Gefrierschrank bei -20°C gelagert. Die Aminosäurezusammensetzung der Honigtauproben wurde analog zu den Phloemsaftproben mittels HPLC analysiert und diese mit den dazugehörigen Phloemsaftproben verglichen.

2.11 Untersuchung des Stickstoffeinflusses auf Wachstumsparameter

Um den Einfluss des Stickstoffs auf das Wachstum der Pflanzen charakterisieren zu können, wurden folgende Parameter bestimmt: das Frisch- und Trockengewicht von ober- und unterirdischen Pflanzenteilen, die Blattfläche der Pflanzen und das C/N-Verhältnis von Blattproben. Die dazu verwendeten Pflanzen wurden mit den unterschiedlichen Nährlösungen 5 bis 12 Wochen versorgt und für die Erhebung der Parameter komplett geerntet.

2.11.1 Frisch- und Trockengewicht der ober- und unterirdischen Biomasse

Als oberirdische Biomasse wurden alle Pflanzenteile (Blätter, Stängel und Blüten) oberhalb des Substrates definiert. Diese Pflanzenteile wurden abgeerntet und gewogen, wodurch das Frischgewicht bestimmt wurde. Zum Ermitteln des Trockengewichtes wurden diese Pflanzenteile nach 5 - 7tägiger Trocknungsphase (Trockenschrank bei 52°C) ein zweites Mal gewogen. Zur Bestimmung der unterirdischen Biomasse mussten zuerst die Wurzeln komplett vom Substrat getrennt werden. Dazu wurden diese unter fließendem Wasser vorsichtig gewaschen, bis das gesamte Vermiculit herausgespült war. Durch leichtes Ausdrücken und Abtupfen mit Papier konnte anhaftendes Wasser entfernt werden. Die Wurzeln wurden dann gewogen und ebenfalls bei 52°C für 5 - 7 Tage im Wärmeschrank getrocknet. Anschließend wurde deren Trockengewicht bestimmt. Aus den Angaben zum Frisch- und Trockengewicht wurde der Wassergehalt der Pflanzen errechnet.

2.11.2 Messen der Blattflächen

Die Oberfläche der Blätter stellt ein wichtiges Wachstumskriterium dar. Je größer die Fläche der Blätter, umso mehr Licht kann für die Photosynthese eingefangen werden. Zudem haben die Blätter den größten Anteil an der Biomasse krautiger Pflanzen. Zum Bestimmen der Blattfläche wurde ein Areameter (Model 3100, LI-COR: Lehrstuhl für Pflanzenökologie) verwendet. Alle grünen Blätter einer Pflanze wurden an den Blattachsen vom Stängel abgetrennt und im Ganzen flach auf dem Areameter ausgebreitet. Auf der Folie liegend wurden die Blätter durch das Gerät gezogen, wobei sie einen Lichtstrahl unterbrachen. Diese Unterbrechung des Lichtes diente der Messung der Blattfläche. Sehr junge Blätter mussten vor der Messung vorsichtig auseinandergerollt werden.

2.11.3 Bestimmung der C/N-Verhältnisse

Das Verhältnis von Stickstoff (Nitrat bzw. freie Aminosäuren) zu Kohlenstoff (Stärke) ist im Blatt ein empfindlicher Indikator des Ernährungszustandes (Schulze, 2002). So kann sowohl Stickstoffmangel, als auch Überdüngung anhand des C/N-Verhältnisses erkannt werden. Das dazu verwendete Blattmaterial wurde 5 - 7 Tage bei 52°C getrocknet, mittels einer Kugelmühle (Retsch) homogenisiert und in Zinnschiffchen eingewogen. Die Analysen der Proben wurden in der Zentralen Analytik des BayCEER in einem CHN-Analysator (Thermo Quest, Flash EA, 1112) vorgenommen. Durch Verbrennung der Proben in Sauerstoffüberschuß bei 900°C (thermische Oxidation) und anschließende Reduktion bei 680°C entsteht ein Gasgemisch, in dem Kohlendioxid, Wasser und Stickoxide dominieren. Durch verschiedene Fallen werden aus diesem Gasgemisch überschüssiger Sauerstoff sowie flüchtige Halogene und Schwefelverbindungen entfernt. Stickoxide werden zu Stickstoff reduziert. Die entstandenen Gase Stickstoff und Kohlendioxid werden thermodesorptiv an mit Silicagel gefüllten Säulen getrennt und mittels Wärmeleitfähigkeitsdetektion bestimmt. Als Trägergas wurde Helium verwendet, wobei die Nachweisgrenze für Kohlenstoff bei 0,14% und für Stickstoff bei 0,014% lag.

2.12 Bestimmung des Stickstoffgehaltes von Bodenproben natürlicher Rainfarnstandorte

Bislang gibt es keine Untersuchungen zum Stickstoffbedarf von Rainfarn. Nach Ellenberg (1979) wird *T. vulgare* als mäßiger Stickstoffzeiger eingestuft, denn die Pflanzen wachsen bevorzugt auf ruderalen Standorten, wie z. B. Schuttplätzen und Wegrändern. Es fehlen in der Literatur jedoch konkrete Angaben über benötigte Stickstoffmengen. Um zu überprüfen, ob die NH_4NO_3 -Konzentrationen der verwendeten Nährlösungen von 1 mM, 3 mM, 6 mM und 12 mM angemessen waren, wurden Ammonium- und Nitratbestimmungen an natürlichen Rainfarnstandorten vorgenommen.

2.12.1 Probennahme und Extraktion

Es wurden 10 Rainfarnstandorte auf dem Gelände der Universität ausgewählt, deren Beschaffenheit möglichst unterschiedlich war (Lage, Bodenart, Zusammensetzung umgebender Pflanzengesellschaften). An drei Terminen im Abstand von jeweils vier Wochen

wurden an jedem dieser Standorte mittels Bohrstock (Durchmesser 8 cm) drei Bodenproben aus zwei Tiefenschichten (0 - 5 cm, 5 - 10 cm) gezogen. In diesen Horizonten befindet sich bei Grünland die Hauptmenge der Wurzelmasse ($> 90\%$) und die meisten Nährstoffe (Scheffer & Schachtschabel, 1992). Aus vorangegangenen eigenen Erhebungen war bekannt, dass die Rhizome und die Wurzeln von Rainfarn oberflächennah wachsen (Bereich 0 - 5 cm). Da die Nährstoffe aber über Diffusion des Bodenwassers zu den Pflanzen gelangen, wurde auch die nicht von den Rhizomen durchzogene Tiefenschicht von 5 - 10 cm untersucht. Die genommenen Bodenproben wurden sofort gekühlt, um Umsetzungsprozesse zu verhindern. Im Labor wurden die drei Proben eines Standortes der gleichen Höhenstufe vereinigt und homogenisiert, wobei der Boden mit den Händen fein zerkrümelt und Steine, Pflanzen und Wurzeln herausgelesen wurden. Von diesen vereinigten Bodenproben wurde der pH-Wert bestimmt und jeweils 100 g abgewogen, welche in der Gefriertrocknung (Christ, Alpha 2-4) getrocknet wurden. Die nun wasserfreien Bodenproben wurden erneut gewogen und der Wassergehalt des Frischmaterials errechnet. Die getrockneten Proben wurden ein zweites Mal zerkleinert und gesiebt (Porenweite 2 mm). Von diesem homogenisierten Material wurde eine Menge von 10 g abgewogen, in eine PE Weithalsflasche überführt und mit 80 ml KCl (1M) aufgeschwemmt. Das Kaliumchlorid löst die im Boden vorhandenen Ammonium- und Nitrationen aus. Nach einer Stunde Wartezeit, die dem Aufweichen der Bodenaggregate diente, wurden die Proben in einem Überkopfschüttler (Lehrstuhl für Bodenphysik) für eine Stunde geschüttelt. Eine gute Durchmischung der Proben mit KCl wurde somit gewährleistet. Im Anschluss daran wurden zwei Reinigungsschritte durchgeführt. Dazu wurden die Proben als erstes bei 20°C und 3000 g für 10 min zentrifugiert und der Überstand abgenommen. Dieser wurde in einem zweiten Schritt zusätzlich gefiltert (Cellulose-Acetate Filter, Porengröße 0,45 μm), um letzte Bodenpartikel aus der Lösung zu entfernen. Die gesamte Extraktion fand bei Raumtemperatur statt. Von diesen gereinigten Extrakten wurden Aliquote für die Nitrat- bzw. Ammoniumbestimmung verwendet.

2.12.2 Ammoniumbestimmung

Die Bestimmung des Ammoniumgehaltes der Bodenproben basiert auf der Berthelot-Reaktion, nach der Ammoniumionen oder Ammoniak zum blau gefärbten Indophenolion reagieren. Das Ammonium, welches durch KCl aus dem Boden heraus gewaschen wurde, bildet bei hohem pH-Wert und in Anwesenheit von Chloridionen Monochloramin (NH_2Cl). Dieses reagiert mit einer Phenolverbindung zu einem blauen Indophenolkomplex (Abbildung

8). Die Konzentration dieses Komplexes kann bei einer Wellenlänge von 630 nm photometrisch gemessen werden. Für diese Reaktion wurden 10 ml des Bodenextraktes mit 80 ml Farbreagenz 1 (Tabelle 7) vermischt. Nach einer Wartezeit von 15 min wurde 1 ml der Färbelösung 2 (Tabelle 7) dazugegeben. Die stattfindende Umsetzung des Ammoniums zum Indophenolkomplex, die durch eine Blaufärbung angezeigt wurde, benötigte eine Reaktionszeit von ca. 5 Stunden. Nach Ablauf dieser Zeit wurde 1 ml der Lösung in eine Plastikküvette überführt und deren Extinktion bei einer Wellenlänge von 630 nm gemessen. Zusätzlich zu den Reaktionen der Bodenprobenextrakte wurden die gleichen Schritte mit Ammoniumlösungen bekannter Konzentrationen (5; 2,5; 1,25; 0,65; 0,315; 0,156; 0,078 mg/l) durchgeführt. Die Ergebnisse dieser Extinktionsmessungen wurden als Kalibrierungsstandard verwendet.

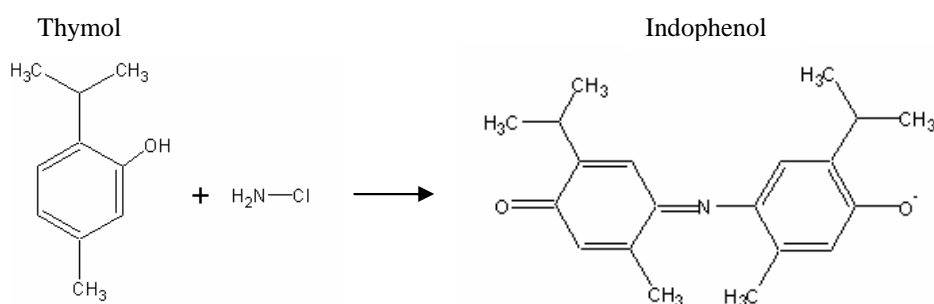


Abbildung 8: Berthelot-Reaktion zum Nachweis von Ammoniumionen. Eine Phenolverbindung (z. B. Thymol) reagiert mit Monochloramin zu Indophenol (verändert nach <http://de.wikipedia.org/wiki/Berthelot-Reaktion>).

Tabelle 7: Reaktionsansatz zur Bestimmung von Ammoniumkonzentrationen in Bodenproben. Die angegebenen Volumina beziehen sich auf je eine Bodenprobe. Die Zusammensetzung der einzelnen Bestandteile der Reaktionslösungen sind dem Anhang zu entnehmen.

Reaktions-schritt	eingesetzte Reaktionslösungen	Zusammensetzung der Reaktionslösungen
1	80 ml Färbelösung 1 (unmittelbar vor der Verwendung herstellen)	15 ml Nitroprussidlösung
		15 ml Phenollösung
		750 ml VE-Wasser
2	1 ml Färbelösung 2	0,5 g Natriumdichlorisocyanuratsäure in 100 ml Pufferlösung gelöst

2.12.3 Nitratbestimmung

Die Bestimmung des Nitratgehaltes der in KCl extrahierten Bodenproben wurden in der Zentralen Analytik des BayCEER mittels Fließ-Injektions-Analyse (Modell: MLE Dresden, FIA-LAB) durchgeführt. Dazu wurden 2 ml der Probe eingesetzt, wobei das Nitrat zuerst zu Nitrit reduziert wurde. Dieses reagiert in saurem Medium mit Sulfanilamid und 1-Naphthylamin zu einem roten Azofarbstoff (Abbildung 9). Die Konzentration des Azofarbstoffes konnte bei einer Wellenlänge von 546 nm photometrisch bestimmt werden. Zum Erstellen der Eichkurve wurden Nitratlösungen bekannter Konzentrationen (5; 2,5; 1; 0,5; 0,25; 0,1 mg/l) verwendet.

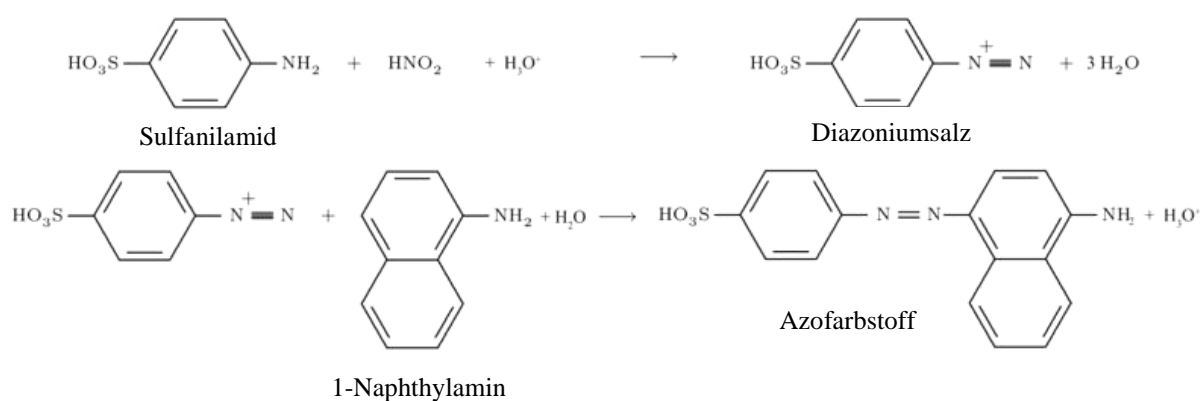


Abbildung 9: Nitritnachweisreaktion - Umsetzung von Nitrit mit Sulfanilamid und 1-Naphthylamin zu einem roten Azofarbstoff (verändert nach http://de.wikipedia.org/wiki/Bild:Lunges_Reagenz.jpeg).

2.13 Such- und Saugverhalten der Blattläuse an unterschiedlich N-gedüngten Pflanzen

Die Blattläuse benötigen für ihre Ernährung in erster Linie die freien Aminosäuren des Phloemsaftes. Ob sie dabei Unterschiede im Aminosäuregehalt oder in der Aminosäurezusammensetzung wahrnehmen können ist unklar. Daher wurden in dieser Arbeit Verhaltensbeobachtungen an Blattläusen durchgeführt. Es sollte untersucht werden, ob die Tiere Differenzen zwischen verschiedenen N-Düngungsstufen wahrnehmen und ob sie bestimmte Pflanzen bevorzugen. Zu diesem Zweck wurden EPG-Messungen und Präferenzversuche durchgeführt.

2.13.1 EPG-Messungen (Electrical Penetration Graph)

McLean & Kinsey (1964) entwickelten eine Technik, die es ermöglicht, das Such-, Saug- und Speichelabgabeverhalten von stechend-saugenden Insekten, wie z. B. Blattläusen oder anderen Homoptera, im Pflanzengewebe zu beobachten. Das Prinzip dieser EPG-Messungen basiert auf einem elektrischen Stromkreis, in den eine Pflanze und das daran saugende Insekt integriert werden (Abbildung 10a). Bis zu acht dieser Stromkreise wurden gleichzeitig in einem Faradaykäfig (Maße: 95 x 71 x 165 cm) aufgebaut, welcher störende elektrische Signale abhält (Van Helden & Tjallingii, 2000). Über diesem Käfig wurde eine Pflanzenleuchte installiert, die während der Messungen Langtagbedingungen erzeugte. Es wurden zwei auf Gleichstrom (DC) basierende EPG-Geräte (GIGA-4) und eine AD-Karte (MW 88 U/V) nach Tjallingii (1985; 1988) verwendet.

Als Pflanzenelektrode diente ein steifer unisolierter Kupferdraht, der in das feuchte Substrat des Pflanztopfes gesteckt wurde. Die Insektenelektrode setzte sich aus den folgenden drei Teilen zusammen (Abbildung 10b): einem 2 cm langen Metallstift, der in die Elektrodenhalterung der EPG-Anlage eingeführt wurde, einem ca. 3 cm langen, biegbaren Kupferdraht, der an dessen Ende angelötet war und einem 1 - 2 cm langen sehr feinen Golddraht (Durchmesser: 20 μm), der an den Kupferdraht mittels Silberfarbe befestigt wurde. Das freie Ende des Golddrahtes wurde mit der elektrisch leitenden Silberfarbe auf den Blattlausthorax aufgeklebt (Abbildung 11a).

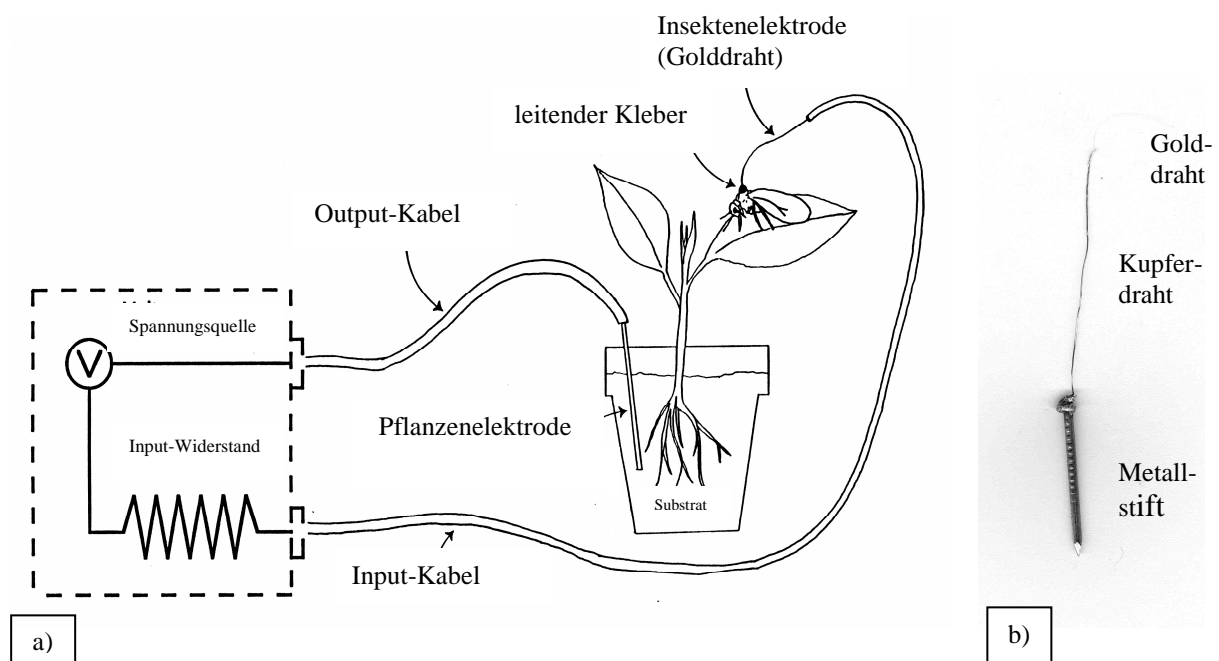


Abbildung 10: a) Aufbau eines EPG-Stromkreises und Basiselemente (verändert nach Walker, 2000); b) dreiteilige Insektenelektrode

Zum Ankleben des Golddrahtes wurde eine spezielle Konstruktion verwendet. Diese bestand aus einer Pipettenspitze, die durch einen Schlauch mit einer Wasserstrahlpumpe verbunden und auf einer Halterung unter einem Binokular (Zeiss 475022, max. 20fache Vergrößerung) aufrecht stehend befestigt war. Die Wasserstrahlpumpe erzeugte einen Saugstrom, der die Blattläuse auf der Spitze der Pipette fixierte. Die Tiere wurden von einer Futterpflanze abgesammelt und mit einem Pinsel vorsichtig auf die Spitze der Ansaugvorrichtung gesetzt. Das Ende des Golddrahtes (Durchmesser: 20 μM) wurde auf den Thorax der Blattlaus gelegt und eine kleine Menge Silberfarbe (RS Components) darauf gegeben. Nach ca. 1 min war die Farbe getrocknet und die Blattlaus wurde von der Ansaugvorrichtung vorübergehend auf ein frisch abgeschnittenes Blatt einer Futterpflanze (Van Helden & Tjallingii, 1993) überführt. Auf diesem Blatt verblieben die Tiere zum Stressabbau 1 - 2 Stunden. Dadurch sollte überprüft werden, dass die Blattläuse durch den Klebevorgang nicht geschädigt wurden und die befestigte Konstruktion hielt. Tiere, die nicht auf diesem Blatt herumliefen und kaum Reaktion auf Berührung zeigten, wurden nicht für die EPG-Versuche verwendet. Für jede Messung wurden 10 - 12 adulte ungeflügelte Blattläuse vorbereitet, von denen acht für die Versuche benötigt wurden. Je zwei Aphiden wurden auf ungefähr gleich alte Blätter einer Pflanze gesetzt. Die Blätter der Pflanzen wurden vor der Messung in die drei Alterskategorien (jung, ausgewachsen, alt) eingeteilt, was in etwa den Blattpositionen oben, Mitte und unten am Spross entsprach. Die verwendeten Pflanzen waren genetisch identisch und gleichen Alters. Sie wurden mit den Nährlösungen 4 - 13 Wochen angezogen. An jedem Messtag wurde das Verhalten der Blattläuse an Blättern gleichen Alters bzw. gleicher Position beobachtet. Die Beobachtungsdauer der Blattläuse betrug acht Stunden (Van Helden, 1992; Van Helden & Tjallingii, 1993), wobei die Messung direkt nach dem Ansetzen der Aphiden an die Blätter gestartet wurde. Da viele Homoptera die Unterseite der Blätter bevorzugen (Klingauf, 1970) wurde beim Ansetzen der Tiere darauf geachtet, dass sie diese erreichen konnten (Abbildung 11b). Der Golddraht durfte dabei nicht in Kontakt mit der Pflanze kommen, da dies Störsignale erzeugt hätte.

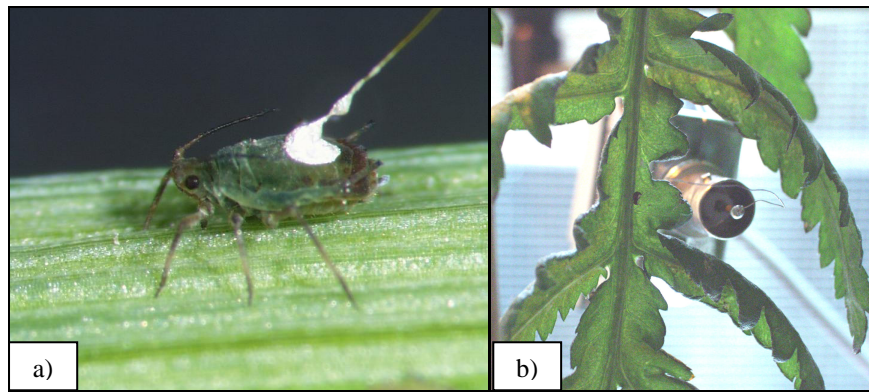


Abbildung 11: a) Blattlaus mit angeklebtem Golddraht. Als Kleber wurde elektrisch leitende Silberfarbe verwendet. (www.innovations-report.de/bilder_neu/46555_Laus.jpg); b) Position der Blattlaus am Rainfarnblatt während einer EPG-Messung. Im Hintergrund ist die Halterung der Insektenelektrode zu sehen.

Beim Anstechen des Pflanzengewebes durch die Blattlaus wurde der angelegte Stromkreis geschlossen und Spannungspotenziale konnten gemessen werden. Diese änderten sich, wenn das Stilet unterschiedliche Gewebe und Zellschichten bei der Suche nach den Leitgeweben passierte. Diese Änderungen der elektrischen Potenziale wurden verstärkt und konnten graphisch mittels eines speziellen PC-Programmes (PROBE 3.0 Software für Windows XP) in Form von charakteristischen Wellenlinien dargestellt werden. Mit Hilfe dieser Wellenlinien konnte die Position des Stilets im Pflanzengewebe ausgemacht werden. So waren beispielsweise Zellwände und Zellzwischenräume elektrisch positiv geladen, während das Zellinnere negativ geladen war. Stach die Blattlaus eine Zelle an, wurde dieser Abfall des elektrischen Potenzials als potential drop (pd) in der Aufzeichnung der Wellenlinie dargestellt. Mit Hilfe dieser Technik konnten den Wellenlinien (Abbildung 12) folgende Verhaltensweisen der Blattläuse zugeordnet werden:

- Anstechen des Pflanzengewebes - kein Anstechen: probing - non probing
- Suche im Pflanzengewebe (stylet pathway activities): Wellenlinien A - C
- Zellenanstich: potential drop
- Aufnahme von Xylemsaft: Wellenlinie G
- Aufenthalt im Phloemgewebe: Wellenlinie E
 - Speichelabgabe: E1
 - Phloemsaftaufnahme und Speichelabgabe: E2
- Probleme mit Stilettführung (derailed stylet mechanics): Wellenlinie F (in Abbildung 12 nicht abgebildet)

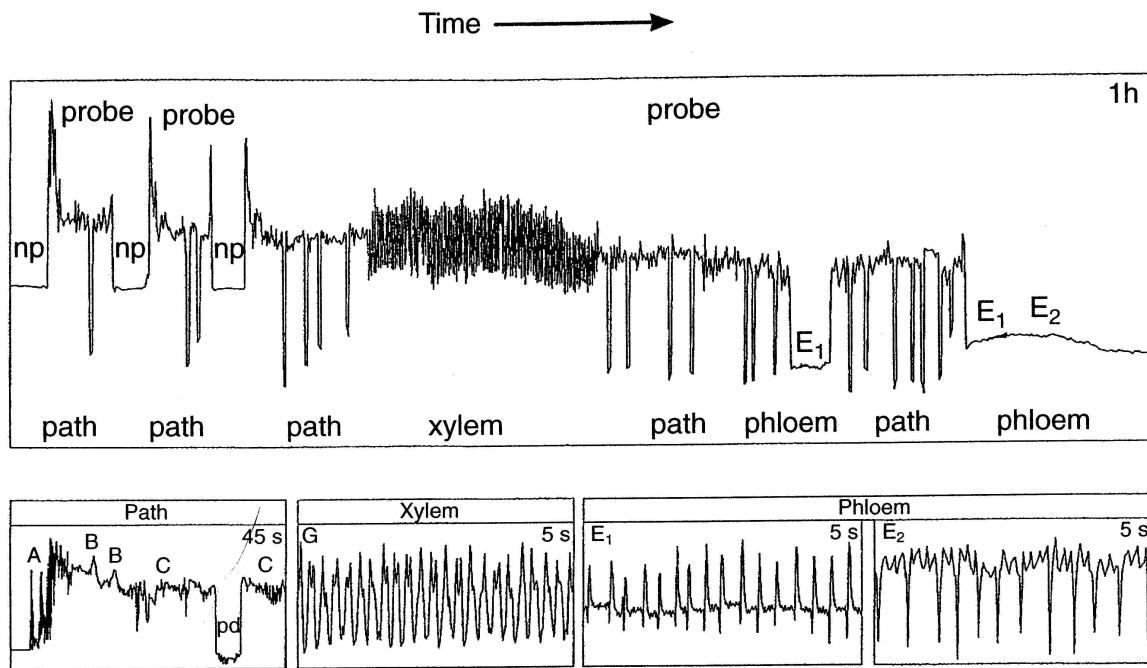


Abbildung 12: Graphische Darstellung eines EPG (nach Tjallingii & Hogen Esch, 1993): Die obere Abbildung zeigt den typischer Anfangswechsel zwischen non-probing (np) und probing, die Aufnahme von Xylemsaft sowie die Wellenlinien, die für die Penetration von Siebröhren und die Aufnahme von Phloemsaft stehen (E1, E2). Die unteren Abbildungen zeigen Detailansichten der charakteristische Wellenlinien der „stylet pathway activities“ (A, B, C); Zellanstiche (potential drop: pd); Xylemsaftaufnahme (G) und Aufenthalt im Phloem (E1: Speichelabgabe, E2: Phloemsaftaufnahme).

Der Anfang und das Ende jeder Wellenlinie wurden im Anschluss an die Messungen manuell zugeordnet und mittels Excel Makro (van Giessen & Jackson, 1998) ausgewertet. In die statistische Auswertung des Such- und Saugverhaltens flossen nur die Daten von Blattläusen ein, die mindestens 50% der aufgezeichneten Zeit Aktionen im Pflanzengewebe zeigten. Bei den anderen musste davon ausgegangen werden, dass die Tiere während der Messung vom Blatt heruntergefallen waren oder der elektrische Kontakt gestört war.

Jede Pflanze wurde dreimal für die EPG-Messungen verwendet, wobei die zu beobachtenden Blattläuse jeweils an unterschiedliche Blätter der Pflanze gesetzt wurden (jung, ausgewachsen, alt). Jede Blattlaus wurde hingegen nur einmal verwendet. EPG-Messungen wurden mit den Blattlausarten *U. tanacetii* und *M. tanacetaria* durchgeführt.

2.13.2 Präferenzversuche

Um zu testen, ob die Blattläuse bei freier Auswahl Präferenzen für Pflanzen mit spezieller Stickstoffversorgung zeigen, wurde die Verteilung von adulten Blattläusen an Pflanzen mit unterschiedlicher N-Versorgung ausgezählt. Dazu wurde je ein Blatt der Pflanzen, welche mehrere Wochen mit Nährlösung angezogen wurden, abgeschnitten und in einen Erlenmeyerkolben mit 100 ml entsprechender Nährlösung gestellt. Die Öffnungen des Erlenmeyerkolben wurden mit Parafilm® verschlossen, damit keine Blattläuse in die Nährlösungen fallen konnten. Die Blätter wurden so in einem Glaskäfig (20 x 20 x 29 cm) angeordnet, dass in der Mitte Platz für eine Petrischale blieb (Abbildung 13). In diese Petrischale wurden 100 adulte Blattläuse gesetzt und vier 19 cm lange Holzstäbchen dazugestellt, die jeweils zu einem Blatt führten. Weitere Holzstäbchen wurden von Blatt zu Blatt gelegt und dienten den Blattläusen als Brücken zum Überwechseln auf benachbarte Blätter. Weiterhin konnten die Aphiden über sich berührende Blattteile ab- bzw. zuwandern. Es wurden die Verteilung der adulten Blattläuse und die Anzahl der während dieser Zeit geborenen Larven nach 48 Stunden ausgezählt. Dieser Versuch wurde mit den Blattlausarten *U. tanaceti* und *M. tanacetaria* unabhängig voneinander mehrmals durchgeführt.

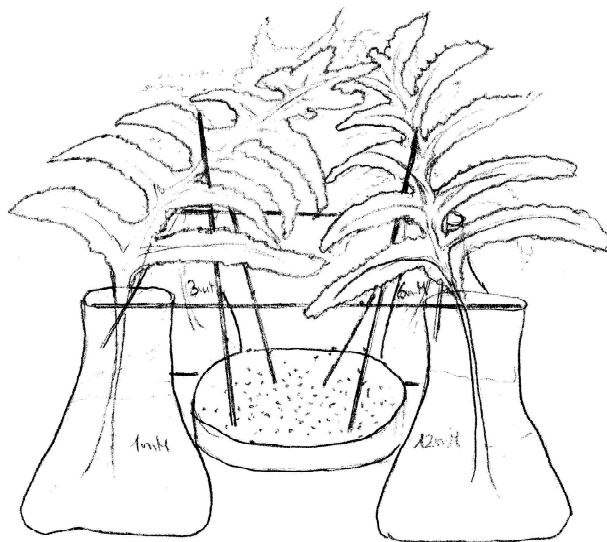


Abbildung 13: Versuchsaufbau der Präferenzversuche. Je ein Blatt einer über mehrere Wochen mit Nährlösung unterschiedlicher Konzentrationen (1 mM, 3 mM, 6 mM und 12 mM NH_4NO_3) angezogenen Pflanze wurde 100 Blattläusen angeboten. Diese gelangten über Holzstäbchen zu den Blättern und konnten beliebig ab- und zuwandern. Die Verteilung der Aphiden sowie die Anzahl neugeborener Jungtiere wurden nach 48 h ausgezählt.

2.14. Vergleich der Blattvergilbung bei Befall durch die Blattlausarten *U. tanacetii* und *M. tanacetaria*

Wenn Rainfarnpflanzen von Blattläusen der Art *U. tanacetii* oder *M. tanacetaria* befallen sind, werden unterschiedliche Schädigungseffekte erkennbar (siehe Kapitel 2.5.1 und 2.5.2). Je nach Blattlausart können seneszenzartige Blattvergilbungen unterschiedlich schnell auftreten bzw. in verschiedenem Ausmaß ersichtlich werden. Um diesen Einfluss der Blattläuse auf die Pflanzen zu quantifizieren, wurden Versuche zur Feststellung der Anzahl der vergilbenden Blätter und des Grades dieser Vergilbung durchgeführt. Dazu wurden 100 adulte ungeflügelte Blattläuse beider Arten auf je eine frische Futterpflanze gesetzt. Zu Beginn des Versuches wurden die Blätter dieser Pflanzen gezählt, vertrocknete Blätter entfernt und die Anzahl bereits leicht vergilbter Blätter notiert. Nach dem Ansetzen der Blattläuse wurde jeweils im Abstand von sieben Tagen vier Wochen lang der Anteil optisch erkennbarer Blattschädigung erhoben. Zu diesem Zweck wurden die vergilbten Blätter ausgezählt, wobei vier Kategorien von abgestorben bis nicht geschädigt definiert wurden (Abbildung 14). Dieser Versuch wurde mehrmals wiederholt. Für die Auswertung wurde der prozentuale Anteil der geschädigten Blätter berechnet, wobei der Grad der Schädigung in die Auswertung mit einbezogen wurde.

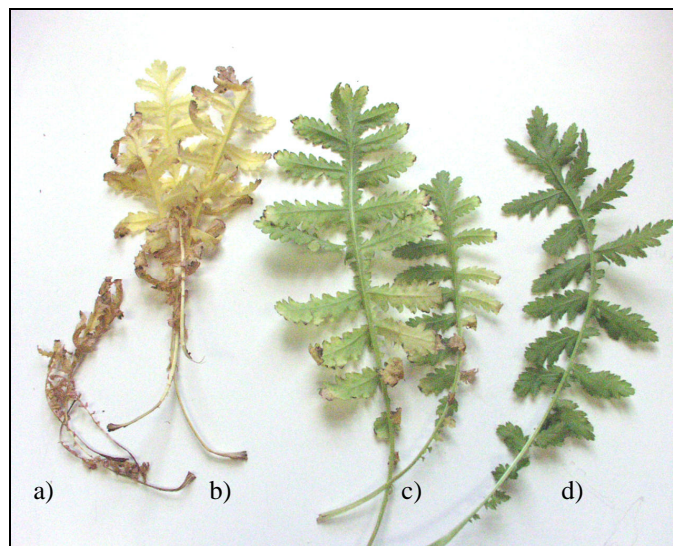


Abbildung 14: Unterschiedlich stark geschädigte Blätter nach Befall von Blattläusen. Vier Kategorien der Blattschädigung wurden definiert: a) vertrocknet; b) stark vergilbt mit einigen teilweise vertrockneten Blattfiedern; c) leicht vergilbt mit anfangender Vertrocknung der Blattfiederspitzen; d) keine optisch erkennbaren Schädigungen

2.15. Auswertung und statistische Tests

Für die Datenaufbereitung und die Berechnung von Mittelwerten, Standardabweichungen und Standardfehlern, wurde Microsoft Office Excel 2003 verwendet. Die statistische Auswertung wurde mit den Programmen SPSS 13.0 sowie 14.0, Statistica 6.0 und Primer 6.1.6 durchgeführt. Das Signifikanzniveau wurde auf $\alpha \leq 0,05$ festgelegt, als Trend wurden Unterschiede mit einem Signifikanzniveau von $\alpha \leq 0,1$ definiert. Signifikanzen sind in Abbildungen mit einem Stern (*) und Tendenzen mit einer Raute (#) gekennzeichnet. Bei relativen Zahlen (Prozentangaben), nicht normalverteilten Datensätzen oder Varianzinhomogenität wurde nicht-parametrisch getestet: Kruskal-Wallis Test mit anschließenden paarweisen Mann-Whitney U Tests. Bei nicht normalverteilten Datensätzen wurden Mediane \pm Quartile (25% und 75%) angegeben und dargestellt. Die errechneten Signifikanzen der Post hoc Tests zu den EPG-Messungen und den Phloemsaftzusammensetzungen wurden nicht Bonferroni korrigiert, da Unterschiede nach dieser sehr konventionellen Korrekturen nicht mehr deutlich geworden wären (Moran, 2003). Die abgebildeten Diagramme wurden sowohl mit den oben genannten Programmen, als auch mit Sigma Plot 8.0 erstellt.

3. Ergebnisse

3.1. Anzahl und Verwendung der durch vegetative Vermehrung gewonnenen Pflanzen

Das im Januar 2005 ausgegrabene Rainfarnrhizom wurde zum Aufbau einer Mutterpflanzenkultur benutzt. Von dieser Kultur wurden alle in der vorliegenden Arbeit verwendeten Versuchspflanzen durch Stecklings- oder Rhizomvermehrung gewonnen. In der Zeit von Mai 2005 bis November 2007 wurden aus diesen Mutterpflanzen zehn neue Generationen mit insgesamt 160 Pflanzen angezogen. Der Beginn der Nährlösungsgabe (fünf bis neun Wochen nach Vermehrung) variierte, da er der Pflanzenentwicklung angepasst wurde. Bis die Pflanzen zum Sammeln von Phloemsaft bzw. für EPG-Messungen verwendet werden konnten, waren sie durchschnittlich 13 Wochen alt. Das Pflanzenalter, die Dauer der Nährlösungsgabe und der Verwendungszweck der Versuchspflanzen können der Tabelle 8 entnommen werden.

Tabelle 8: Zeitliche Abfolge der Pflanzennachzucht aus der Mutterkultur, Alter der Pflanzen und Dauer der Nährlösungsgabe während der Nutzungsphase sowie Verwendungszweck

Jahr	Generation	verwendet		verwendet für	
		im Alter von - bis [d]	davon Tage Nährlösung	Stylektomie	EPG-Messungen
2005	1	77 - 140	31 - 94	x	x
	2	104 - 136	56 - 88	x	x
	3	111 - 125	49 - 63	x	x
	4	94 - 156	51 - 113	x	
2006	5	69 - 103	55 - 89	x	
	6	71 - 149	28 - 106	x	
	7	87 - 129	46 - 88	x	x
	8	86 - 148	42 - 104	x	
2007	9	103 - 134	44 - 75	x	x
	10	120 - 166	53 - 99	x	

Es wurden zusätzlich zu den Pflanzen, welche unter verschiedenen Nährstoffbedingungen angezogen wurden, weitere Pflanzen als Futterpflanzen bzw. für den Schädigungsversuch (siehe Kapitel 2.14) benötigt. Diese wurden auch aus der Mutterpflanzenkultur gewonnen. Daten zum Alter dieser Pflanzen wurden nicht erhoben.

3.2 Stylektomie und Sammeln von Phloemsaft

3.2.1 Eignung der verwendeten Blattlausarten für die Stylektomie und Exsudationsraten

Die Aphidentechnik wurde an folgenden Blattlausarten getestet: *Aphis fabae*, *Aulacorthum solani*, *Brachicaudus cardui*, *Brachicaudus helichrysi*, *Macrosiphoniella persequens*, *Macrosiphoniella tanacetaria*, *Metopeurum fuscoviride*, *Myzus persicae* und *Uroleucon tanacetii*. Aufgrund ihrer geringen Körpergröße und der leicht schräg nach hinten gerichteten Stiletthaltung erwiesen sich *B. helichrysi* und *A. fabae* als weniger gut geeignet. Das Schneiden der Stechborsten der anderen Arten war hingegen problemlos möglich, wobei sich die Blattläuse der Arten *M. tanacetaria*, *U. tanacetii* und *M. fuscoviride* als besonders geeignet herausstellten. Diese sind verhältnismäßig groß und stechen ihre Mundwerkzeuge in einem Winkel von nahezu 90° zur Blattoberfläche in das Pflanzengewebe ein. Um eine mögliche Beeinflussung der Pflanzen durch verschiedene Blattlausarten auszuschließen, wurde nur Phloemsaft von Pflanzen gesammelt, die mit diesen Blattlausarten besetzt waren. *M. fuscoviride* saugte allerdings nur zeitweise an den Blättern, um danach von dieser Art Honigtau zu gewinnen (siehe Kapitel 2.10). Das Schneiden der Stechborsten bei den Arten *U. tanacetii* und *M. tanacetaria* war zu 74 bzw. 75% erfolgreich (Tabelle 9). Insgesamt wurden 675 Radiofrequenzimpulse abgegeben, wobei 505 Stilette erfolgreich durchtrennt wurden.

Tabelle 9: Anzahl abgegebener Radiofrequenzimpulse und Erfolgsraten

	Anzahl abgegebener Impulse	Anzahl durchtrennter Stilette	Erfolg [%]
<i>U. tanacetii</i>	419	312	74
<i>M. tanacetaria</i>	256	193	75

Jedoch war nicht jeder erfolgreiche Schnitt gleichbedeutend mit einer stattfindenden Exsudation. Von einer stattfindenden Exsudation wurde ab einer Mindestmenge von 3 nl Phloemsaft gesprochen. Zeigte sich direkt nach dem Schneiden etwas Phloemsaft, welcher über längere Zeit die Mindestmenge nicht erreichte, wurde dies als abgebrochene Exsudation vermerkt. Bei *U. tanacetii* fand nach einer erfolgreichen Amputation bei 23% der Stilette eine anhaltende Exsudation statt, während bei nur 15% der durchtrennten Stechborsten von *M. tanacetaria* Phloemsaft über eine längere Dauer exsudierte (Tabelle 10). Auch die Anzahl der Exsudationen, die direkt nach dem Schneiden abbrachen, variierte zwischen den Arten, denn

23% der Exsudationen stoppten, wenn *U. tanaceti* verwendet wurde, bei *M. tanacetaria* hingegen belief sich dieser Wert auf 41%. Bei ungefähr der Hälfte aller erfolgreich durchtrennten Stechborsten beider Arten waren die Tiere nicht im Phloem, weshalb keine Exsudation stattfinden konnte.

Tabelle 10: Anzahl durchtrennter Stilette und Exsudationsraten

	Anzahl durchtrennter Stilette	Exsudation findet statt [%]	Exsudation findet nicht statt [%]	Exsudation bricht ab [%]
<i>U. tanaceti</i>	312	23	54	23
<i>M. tanacetaria</i>	193	15	44	41

Die Mehrheit aller anhaltenden Exsudationen (65% bei *U. tanaceti* und 44% bei *M. tanacetaria*) konnte bereits am ersten Tag nach dem Ansetzen der Blattläuse an die Pflanzen verzeichnet werden (Abbildung 15). Wenn dies nicht der Fall war, wurde am zweiten Tag erneut versucht, eine Exsudation zu erhalten. Die Erfolgsquoten lagen hier bei weiteren 26 - 28% (*U. tanaceti* bzw. *M. tanacetaria*). Bei 9% der Pflanzen, an denen *U. tanaceti* saugte, musste über den zweiten Tag hinaus die Aphidenteknik angewendet werden, um ein exsudierendes Stilett zu bekommen. Ein knappes Drittel (28%) aller Siebröhrenexsudate von *M. tanacetaria* befallenen Pflanzen konnte dagegen erst an den Tagen 3 - 6 gesammelt werden. Letztlich war es möglich, von 94% der vorgesehenen Pflanzen Phloemsaftproben innerhalb von 6 Tagen zu sammeln.

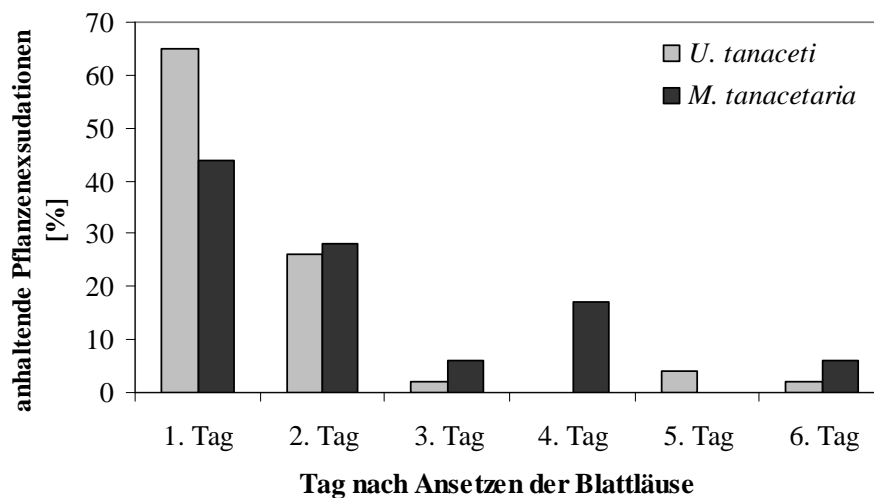


Abbildung 15: Zeitpunkt der ersten anhaltenden Exsudation (≥ 3 nl Phloemsaft) nach dem Ansetzen der Blattläuse.

3.2.2 Anzahl der beprobten Pflanzen und Gesamtmenge des gesammelten Phloemsaftes

Für die Analysen der Aminosäurezusammensetzung des Phloemsaftes wurden Proben von insgesamt 64 Pflanzen gesammelt, wobei für die Stylektomie entweder Aphiden der Art *U. tanacetii* oder *M. tanacetaria* verwendet wurden. Mit beiden Blattlausarten wurde Phloemsaft von Pflanzen gesammelt, welche während der Wachstumsphase mit den unterschiedlichen Nährlösungen versorgt wurden. In der Zeit von August 2005 bis April 2007 wurde *U. tanacetii* verwendet, um Siebröhrenexsudat von 46 Pflanzen zu sammeln. Anschließend wurde in der Zeit von Juni 2007 bis November 2007 die Stylektomie mit der Aphidenart *M. tanacetaria* durchgeführt, wobei weitere 18 Pflanzen unterschiedlicher Nährlösungen beprobt wurden. Die Pflanzen waren während der Phloemsaftsammelphase durchschnittlich 95 - 133 Tage alt und wurden davon 47 - 83 Tage mit den entsprechenden Nährlösungen versorgt. Die exakte Anzahl der beprobten Pflanzen, die durchschnittliche Exsudationsgeschwindigkeit sowie die Phloemsaftausbeute können Tabelle 11 entnommen werden. Es gilt allerdings zu beachten, dass die Gesamtsumme des gesammelten Phloemsaftes ein relativer Wert ist. Viele Exsudationen waren zum Zeitpunkt des Abbruchs nicht beendet. Im August 2005 wurde hingegen Phloemsaft einer gut exsudierenden 3 mM NH_4NO_3 -gedüngten Pflanze bis zum Erliegen dieser Exsudation fortlaufend gesammelt. Insgesamt konnte von diesem Stilett innerhalb von 31 Tagen 25080 nl Phloemsaft gesammelt werden.

Tabelle 11: Anzahl der Pflanzen, von denen Phloemsaft gesammelt wurde, aufgeschlüsselt nach für die Stylektomie verwendeten Blattlausarten, NH_4NO_3 -Konzentrationen der Nährlösungen sowie Gesamtvolumen der Phloemsaftausbeute, durchschnittliche Exsudationsgeschwindigkeit und Sammelzeitraum.

Blattlausart	NH_4NO_3 -Konzentration der Nährlösungen	Anzahl beprobter Pflanzen	Gesamt-volumen Phloemsaft [nl]	durchschnittliche Exsudations-geschwindigkeit [nl/h]	Pflanzen-generation	Zeitraum
<i>U. tanacetii</i>	1 mM	11	12642	28	1 - 8	August 05 - April 07
	3 mM	12	40465	33		
	6 mM	11	18211	36		
	12 mM	12	15293	33		
<i>M. tanacetaria</i>	1 mM	5	4450	33	9 - 10	Juni 07 - November 07
	3 mM	4	1787	13		
	6 mM	4	924	6		
	12 mM	5	8203	34		

3.3 Qualitative und quantitative Bestimmung der Aminosäuren mittels HPLC

Die Identifizierung der im Phloemsaft bzw. im Honigtau enthaltenen Aminosäuren sowie die Bestimmung deren Konzentrationen wurden mittels HPLC vorgenommen. Dazu wurde zu Beginn jeder Messreihe und nach jeweils vier Proben ein externer Aminosäurestandard mit bekannter Zusammensetzung und Konzentration eingesetzt. Ein Beispielchromatogramm für einen typischen Lauf eines 10 μ M Aminosäurestandards ist in Abbildung 16 dargestellt.

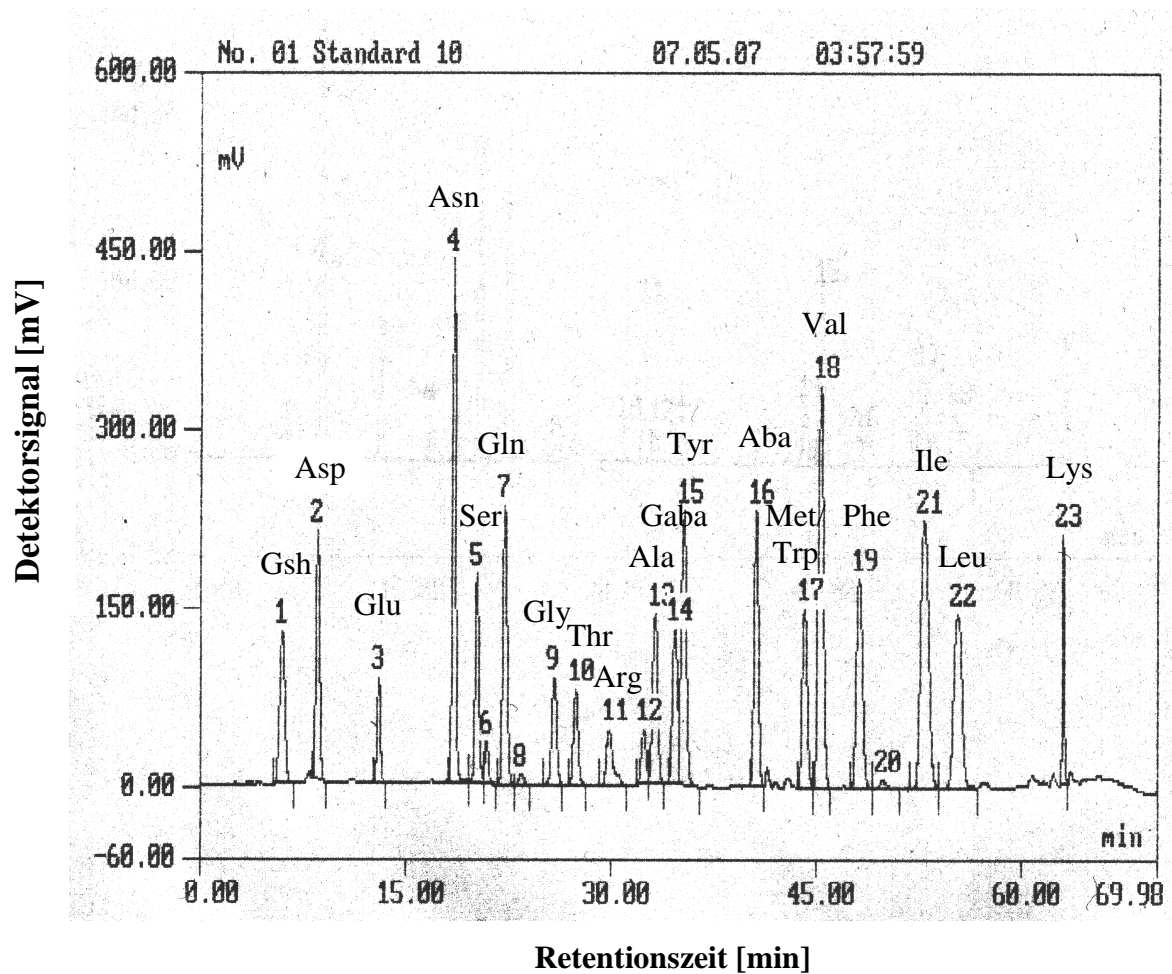


Abbildung 16: HPLC-Chromatogramm eines Aminosäurestandards, wobei die Aminosäuren in einer Konzentration von 10 μ M vorlagen.

Zur Bestimmung der im Phloemsaft bzw. Honigtau enthaltenen Aminosäuren sowie der Berechnung deren Konzentrationen war es meist notwendig, die Proben zweimal zu messen. Bei der ersten Analyse wurden 50 - 100 nl Phloemsaft oder 100 - 300 nl Honigtau eingesetzt, um das ganze Spektrum der enthaltenen Aminosäuren nachweisen zu können. Diese relativ

große Menge an eingesetztem Material ermöglichte auch die Quantifizierung von Aminosäuren, die nur in geringen Konzentrationen in den Proben vorhanden waren. Da in den häufigsten Fällen die dominanten Aminosäuren in sehr hohen Konzentrationen in den Proben vorkamen, war es weiterhin nötig, die Proben stärker verdünnt erneut einzuspritzen. Die dafür eingesetzten Volumina lagen bei 1 - 10 nl Phloemsaft oder 1 - 50 nl Honigtau. Ein Beispielchromatogramm einer Phloemsaftprobe ist in Abbildung 17 dargestellt. Bis auf α -Aminobuttersäure konnten in den Phloemsaft- und Honigtauproben meist alle im Standard enthaltenen Aminosäuren in unterschiedlichen Konzentrationen nachgewiesen werden. Zusätzlich wurde in vielen Proben eine unbekannte Substanz (Abbildung 17: Peak 4) in nicht unerheblicher Menge festgestellt, deren Identifizierung nicht möglich war.

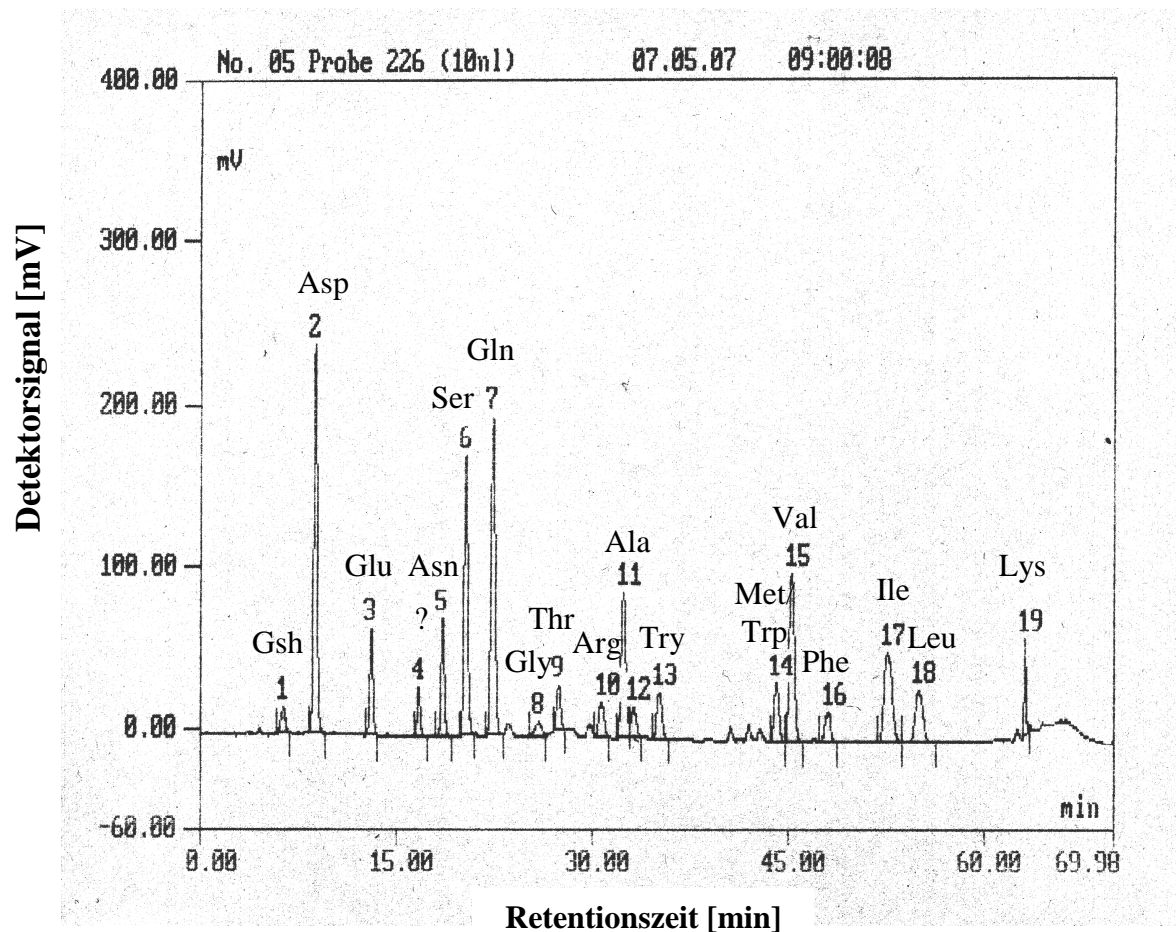


Abbildung 17: HPLC-Chromatogramm einer Phloemsaftprobe, wobei 10 nl Siebröhrenexsudat für die Analyse eingesetzt wurde. Mit Hilfe der Retentionszeiten des Standards konnten 17 Aminosäuren zugeordnet werden. Bis auf α - und γ -Aminobuttersäure waren alle Aminosäuren der Standardmischung auch in der dargestellten Probe vorhanden. Zusätzlich wurde eine Substanz detektiert (Nr. 4), deren Identifizierung nicht möglich war.

3.4 Einfluss unterschiedlicher Stickstoffversorgung auf die Aminosäurekonzentration des Phloemsaftes

Die Aminosäurekonzentrationen der analysierten Phloemsaftproben ($n = 161$) variierten teilweise sehr stark. Dabei lag der niedrigste gemessene Wert bei 22 mM, der höchste bei 1830 mM, wobei während der Sammelperioden zum Teil unterschiedliche Temperaturen und Luftfeuchtigkeiten herrschten. Die Aminosäurekonzentration der meisten Proben (83%) lag aber zwischen 91 - 655 mM. Einen starken Einfluss auf die Gesamtkonzentration der Aminosäuren hatte die Stickstoffkonzentration der Nährlösungen mit denen die Pflanzen angezogen wurden (Abbildung 18). Es zeigte sich dabei eine positive Korrelation zwischen den Datensätzen (Pearson Korrelation: $p < 0,001$; $r = 0,47$; $n = 161$). Paarweise Vergleiche ergaben, dass signifikante Unterschiede (Mann-Whitney U Tests: $p \leq 0,014$) zwischen allen Stufen der Stickstoffdüngung mit Ausnahme des Paares 3/6 mM ($p = 0,176$) existierten. Dies bedeutet, dass die Pflanzen bei erhöhtem Stickstoffangebot mehr Aminosäuren im Phloemsaft transportierten. Die für die Stylektomie verwendeten Blattlausarten hatten dagegen keinen Einfluss auf die Gesamtaminosäurekonzentration des Phloemsaftes.

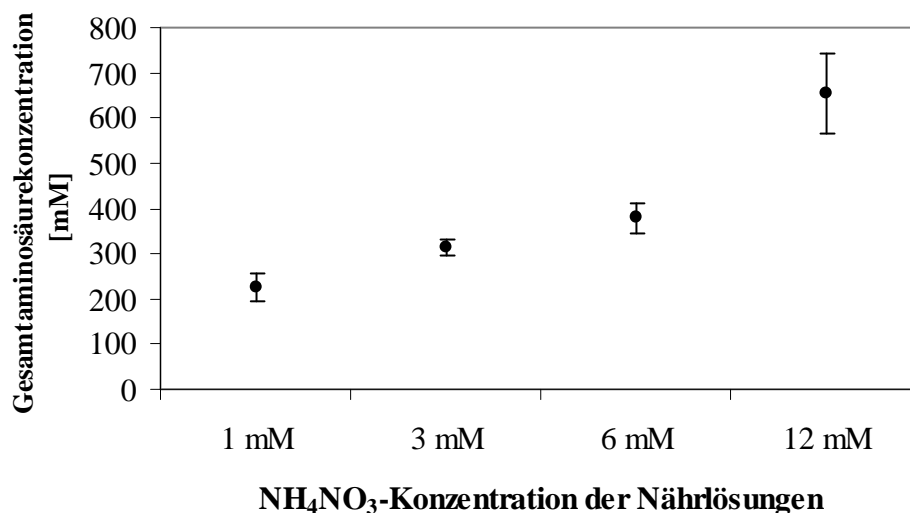


Abbildung 18: Korrelation zwischen den Gesamtaminosäurekonzentrationen des Phloemsaftes und den NH_4NO_3 -Konzentrationen der Nährlösungen, mit denen die Pflanzen versorgt wurden [Pearson Korrelationen: $p < 0,001$; $r = 0,47$; $n = 161$]. Abgebildet sind Mittelwerte und Standardfehler.

3.5 Einfluss unterschiedlicher Stickstoffversorgung auf die Zusammensetzung des Aminosäurespektrums des Phloemsaftes

Im Folgenden soll geklärt werden, auf welche Aminosäuren das Stickstoffangebot einen Einfluss hatte. Da zudem ein Einfluss der Blattlausarten *U. tanacetii* und *M. tanacetaria* auf die Zusammensetzung der Aminosäuren im Phloemsaft nachgewiesen werden konnte (Ähnlichkeitsanalyse nach Bray Curtis - ANOSIM: $p = 0,001$; $R = 0,266$), wurden die Ergebnisse der Aminosäureanalysen unabhängig voneinander ausgewertet.

3.5.1 Für die Stylektomie verwendete Blattlausart: *Uroleucon tanacetii*

Bei 46 Pflanzen wurde zum Sammeln der Phloemsaftproben die Blattlausart *U. tanacetii* verwendet. Die im Phloemsaft nachgewiesenen Aminosäuren, deren prozentuale Anteile am Gesamtspektrum sowie die Unterschiede zwischen den NH_4NO_3 -Düngungsstufen sind in Abbildung 19 dargestellt, wobei auf der linken Seite der Abbildung die nicht essentiellen und auf der rechten Seite die essentiellen Aminosäuren angeordnet sind.

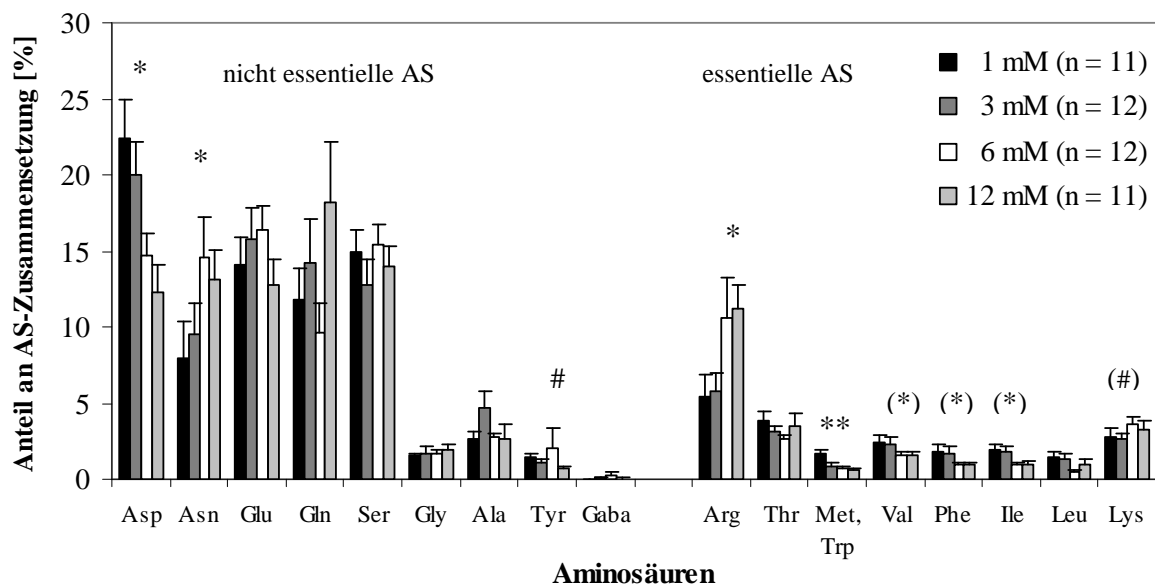


Abbildung 19: Prozentuale Zusammensetzung der freien Aminosäuren des Phloemsaftes von unterschiedlich NH_4NO_3 -gedüngten Rainfarnpflanzen. Für die Stylektomie wurde *U. tanacetii* verwendet. Dargestellt sind Mittelwerte und Standardfehler aus je 11 bzw. 12 Analysen pro N-Versorgung. Die in Klammern angegebenen Symbole beziehen sich auf signifikante Unterschiede nach Gruppierung in niedrige und hohe NH_4NO_3 -Düngung. [Kruskal Wallis Tests: ** steht für $p \leq 0,01$; * steht für $p \leq 0,05$; # steht für $p \leq 0,10$]

Die nicht essentiellen Aminosäuren Aspartat, Asparagin, Glutamat, Glutamin und Serin stellen unabhängig von den N-Konzentrationen der verwendeten Nährlösungen mit durchschnittlich 70 - 72% den Hauptanteil der im Phloem transportierten freien Aminosäuren dar. Glycin, Alanin, Tyrosin und γ -Aminobuttersäure wurden hingegen nur in geringen Mengen nachgewiesen. Die Anteile dieser nicht essentiellen Aminosäuren liegen meist unter 5%, je nach Aminosäure und N-Versorgung der Pflanze. Signifikante lineare Korrelationen zwischen den prozentualen Anteilen am Gesamtspektrum und den verschiedenen NH_4NO_3 -Konzentrationen konnten für Aspartat und Asparagin nachgewiesen werden (Abbildung 20). Der Anteil von Aspartat nimmt mit zunehmender Stickstoffversorgung gleichmäßig ab, während dessen Amid Asparagin mit zunehmender NH_4NO_3 -Konzentration vermehrt nachgewiesen werden konnte. Unterschiede im Gehalt von Glutamat und Glutamin der verschiedenen Düngungsstufen sowie eine signifikante Korrelation zwischen den übrigen Aminosäuren und dem N-Gehalt der Nährlösungen wurden für die mit *U. tanacetii* gesammelten Phloemsaftproben nicht deutlich.

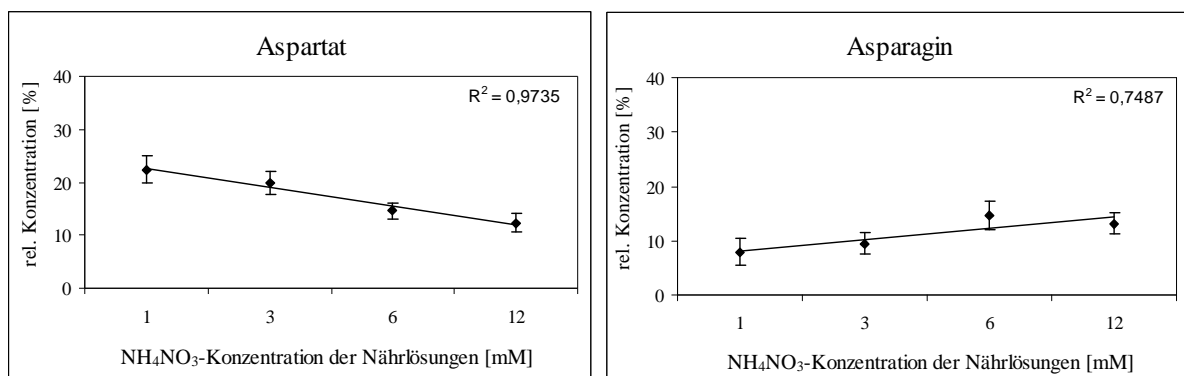


Abbildung 20: Korrelation zwischen den Aminosäuren Aspartat bzw. Asparagin und den Konzentrationen der verwendeten Nährlösungen. *U. tanacetii* wurde zum Sammeln der Phloemsaftproben verwendet. Abgebildet sind Mittelwerte und Standardfehler. [Korrelationen nach Spearman: Aspartat $p < 0,001$; $r_s = -0,48$; $n = 46$; Asparagin $p = 0,005$; $r_s = 0,41$; $n = 46$]

Der prozentuale Anteil von Tyrosin nahm tendenziell zwischen 1 mM und 6/12 mM NH_4NO_3 -gedüngten Pflanzen ab, wobei die 3 mM Pflanzen als Übergangsgruppe betrachtet werden konnten, da diese sich weder von den wenig gedüngten, noch von den stärker gedüngten Pflanzen signifikant unterschieden. Der prozentuale Anteil der anderen nicht essentiellen Aminosäuren Serin, Glycin, Alanin und γ -Aminobuttersäure konnte als gleich bleibend und unabhängig von der zur Verfügung stehenden N-Menge betrachtet werden, da

bei diesen Aminosäuren keine signifikanten Unterschiede zwischen den Düngungsstufen nachgewiesen werden konnten.

Die Summen der essentiellen Aminosäuren Arginin, Threonin, Methionin + Tryptophan, Valin, Phenylalanin, Isoleucin, Leucin und Lysin betrugen unabhängig von der Nährlösungskonzentration 20 - 23% des Aminosäurespektrums des Phloemsafes. Arginin bildete mit durchschnittlich 5 - 12% den größten Anteil an dieser Summe, wobei es stark von der den Pflanzen zur Verfügung stehenden N-Menge beeinflusst wurde. Ein signifikanter Anstieg der Arginingehalte um den Faktor zwei von 1/3 mM NH_4NO_3 -gedüngten Pflanzen zu 12 mM versorgten Pflanzen und von 1 mM zu 6 mM konnte nachgewiesen werden. Die 6 mM NH_4NO_3 -Pflanzen unterschieden sich jedoch weder von den 3 mM noch von den 12 mM NH_4NO_3 -versorgten Pflanzen signifikant. Ein weiterer nährstoffbedingter Einfluss auf die Aminosäurezusammensetzung konnte für Methionin + Tryptophan gezeigt werden. Die Anteile dieser Aminosäuren zeigten einen signifikanten Abfall von den 1 mM Pflanzen zu 6/12 mM NH_4NO_3 -gedüngten Pflanzen, wobei die 3 mM Pflanzen als Übergangsstufe betrachtet werden können, da sich deren Anteil von beiden Gruppen nicht signifikant unterschied. Stickstoff bedingte Zu- oder Abnahmen der anderen essentiellen Aminosäuren konnten nicht nachgewiesen werden, wenn die vier Düngungsstufen einzeln betrachtet wurden. Bei einer Gruppierung der Pflanzen in niedrige N-Versorgung (1/3 mM NH_4NO_3) und hohe N-Versorgung (6/12 mM NH_4NO_3) konnten signifikante Abnahmen von niedriger zu hoher Stickstoffversorgung um den Faktor zwei bei den Aminosäuren Valin, Phenylalanin, Isoleucin und eine tendenzielle Zunahme bei Lysin gefunden werden. Der Anteil dieser essentiellen Aminosäuren am Gesamtspektrum lag meist unter 5%.

Zusammenfassend wurde die Ähnlichkeitsanalyse nach Bray Curtis berechnet. Bei dieser statistischen Auswertungsmethode wurden die Aminosäuremuster aller Proben miteinander verglichen. Auch diese Berechnung zeigte, dass signifikante Unterschiede zwischen den Proben von 1 mM NH_4NO_3 -versorgten Pflanzen zu den Proben der 6 und 12 mM Pflanzen existierten (ANOSIM: $p < 0,001$; $R = 0,117$). Allerdings waren die Varianzen innerhalb der Nährlösungsgruppen recht hoch, was durch den R-Wert angezeigt wurde. (Werte, die gegen Null laufen, geben dabei eine hohe Variabilität innerhalb der Gruppe an, während Werte die gegen 1 gehen eine hohe Variabilität zwischen den Gruppen angeben.)

3.5.2 Für die Stylektomie verwendete Blattlausart: *Macrosiphoniella tanacetaria*

Von 18 unterschiedlich NH_4NO_3 -gedüngten Pflanzen wurden Phloemsaftproben nach Ansetzen der Blattlausart *M. tanacetaria* gesammelt. Analog zu Abbildung 19 sind die im Phloemsaft nachgewiesenen Aminosäuren, deren prozentuale Verteilung sowie die Unterschiede zwischen den NH_4NO_3 -Düngungsstufen für die mit *M. tanacetaria* gesammelten Proben in Abbildung 21 dargestellt. Die nicht essentiellen Aminosäuren sind auf der linken Seite der Grafik angeordnet, die essentiellen auf der rechten Seite.

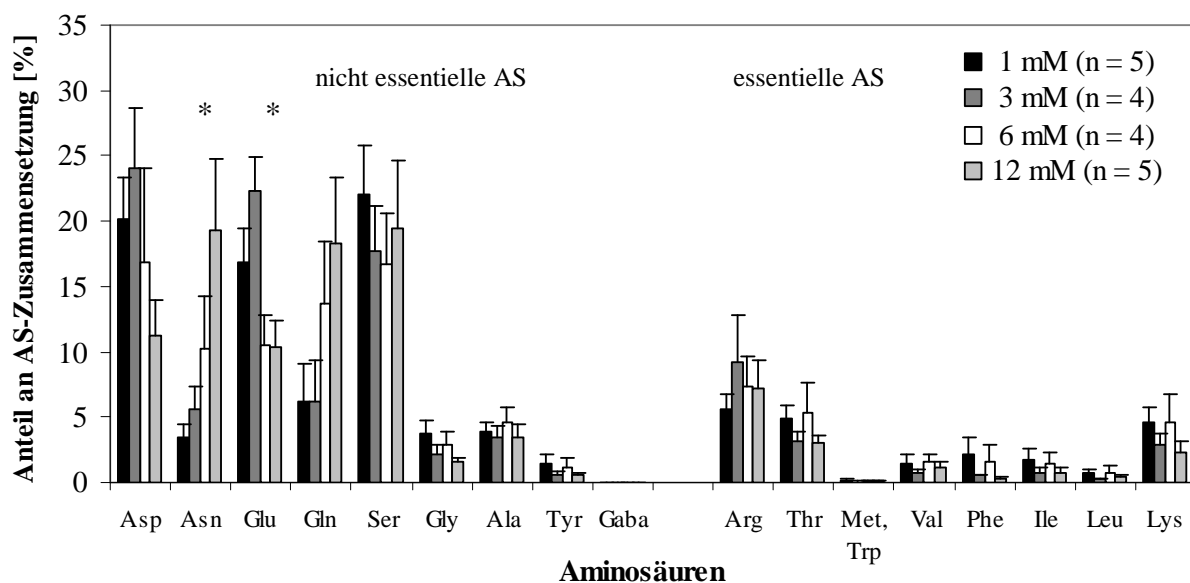


Abbildung 21: Prozentuale Zusammensetzung der freien Aminosäuren des Phloemsaftes von unterschiedlich NH_4NO_3 -gedüngten Rainfarnpflanzen. Für die Stylektomie wurde *M. tanacetaria* verwendet. Dargestellt sind die Mittelwerte und die Standardfehler aus je 4 bzw. 5 Analysen pro NH_4NO_3 -Düngung. [Kruskal Wallis Tests: * steht für $p \leq 0,05$]

Bei der Analyse des Aminosäurespektrums dominierten auch bei diesen Phloemsaftproben die nicht essentiellen Aminosäuren Aspartat, Asparagin, Glutamat, Glutamin und Serin. Diese bildeten je nach N-Konzentration mit einer Gesamtsumme von durchschnittlich 68 - 79% den Hauptanteil der im Phloem enthaltenen Aminosäuren. Die ebenfalls nicht essentiellen Aminosäuren Glycin, Alanin und Tyrosin wurden nur in niedrigen Mengen gefunden (jeweils 1 - 6%), wobei γ -Aminobuttersäure in diesen Proben nicht nachgewiesen werden konnte. Unterschiede zwischen den vier NH_4NO_3 -Versorgungsstufen konnten mittels Kruskal Wallis Test für Glutamat und Asparagin gezeigt werden. Während sich der Anteil an Glutamat

verringerte, wenn den Pflanzen mehr Stickstoff zur Verfügung stand, erhöhte sich dieser bei Asparagin. Hingegen konnten signifikante lineare Korrelationen sowohl für Aspartat und dessen Amid Asparagin, als auch für Glutamat und dessen Amid Glutamin gezeigt werden (Abbildung 22). Die relativen Konzentrationen der Säuren Aspartat und Glutamat nahmen dabei signifikant ab, wenn den Pflanzen mehr Stickstoff zur Verfügung stand, während die Amide Asparagin und Glutamin signifikant zunahmen.

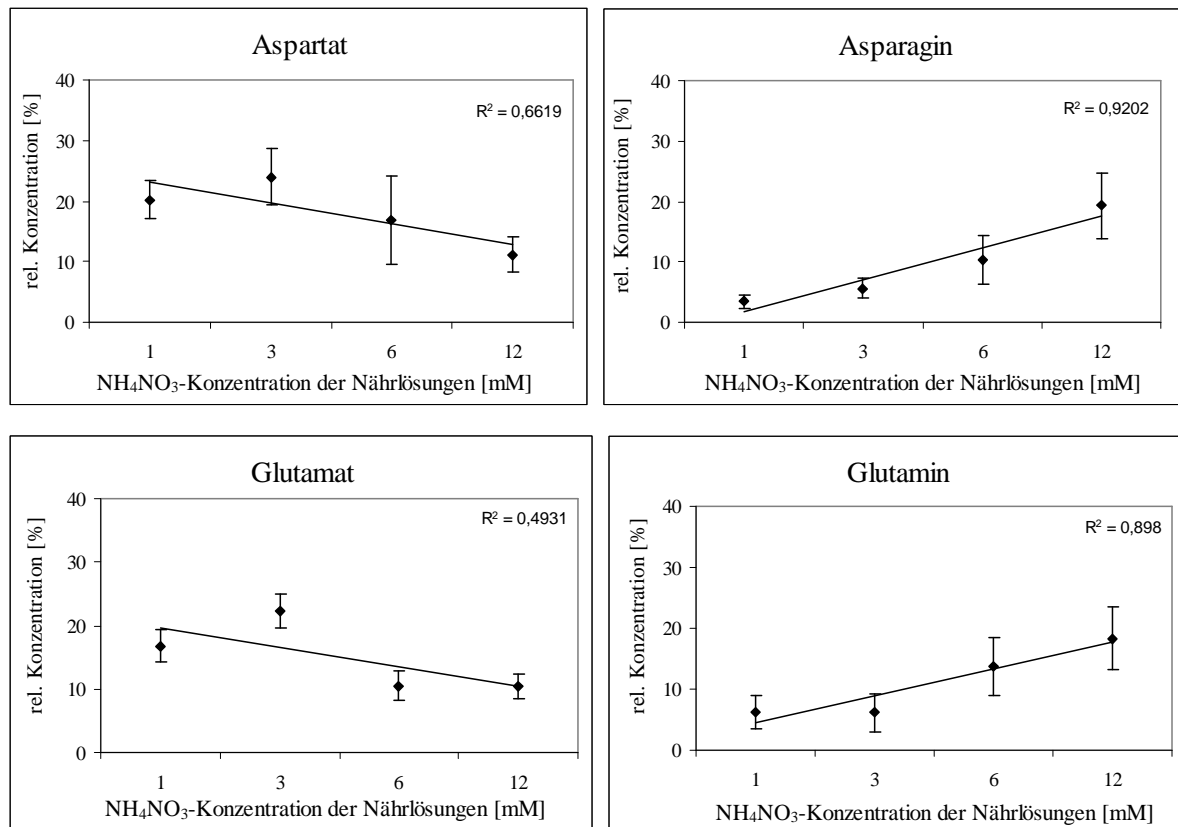


Abbildung 22: Korrelation zwischen den Aminosäuren Aspartat, Glutamat, Asparagin, Glutamin und den Konzentrationen der verwendeten Nährlösungen. *M. tanacetaria* wurde zum Sammeln der Phloemsaftproben verwendet. [Korrelationen nach Spearman: Aspartat: $p = 0,02$; $r_s = -0,53$; $n = 18$; Asparagin: $p < 0,001$; $r_s = 0,75$; $n = 18$; Glutamat: $p = 0,02$; $r_s = -0,54$; $n = 18$; Glutamin: $p = 0,03$; $r_s = 0,52$; $n = 18$]

Der Mittelwert der Summen der essentiellen Aminosäuren lag abhängig von verschiedenen N-Konzentrationen bei 15 - 23%. Dabei machten Arginin, Threonin und Lysin mit prozentualen Anteilen von jeweils 5 - 10% den Hauptanteil an dieser Verteilung aus, während Valin, Phenylalanin, Isoleucin und Leucin in relativ geringen Mengen von weniger als 5% im Phloemsaft vorkamen. Methionin + Tryptophan konnten im Siebröhrenexsudat der mit *M. tanacetaria* befallenen Pflanzen nur in Spuren ($\leq 0,6\%$) nachgewiesen werden. Bei den essentiellen Aminosäuren dieser Phloemsaftproben hatten die unterschiedlichen NH₄NO₃-

Konzentrationen der verwendeten Nährlösungen keinen Einfluss auf die relativen Konzentrationen. Es konnten auch keine Unterschiede gezeigt werden, wenn eine Einteilung der Stickstoffversorgung in niedrig (1/3 mM NH_4NO_3) und stark (6/12 mM NH_4NO_3) gedüngt vorgenommen wurde.

Der Vergleich der Aminosäurespektren aller Proben nach Bray Curtis in Bezug auf die verwendeten Nährlösungen zeigte hingegen, dass es signifikante Unterschiede zwischen den Proben der 1 mM und 12 mM NH_4NO_3 -Pflanzen gab (Ähnlichkeitsanalyse nach Bray Curtis - ANOSIM: $p = 0,016$; $R = 0,428$).

3.5.3 Einfluss der verwendeten Blattlausarten auf die Aminosäurezusammensetzung des Phloemsaftes

Da bekannt ist, dass bestimmte Blattlausarten in der Lage sind, die Aminosäurezusammensetzung des Phloemsaftes zu verändern (Sandström et al., 2000; Sandström & Moran, 2001), sollte dies für die in dieser Arbeit verwendeten Aphiden getestet werden. Die Ergebnisse der Aminosäureanalysen beider Arten sind daher miteinander verglichen worden. Wie bereits unter 3.4.1 und 3.4.2 gezeigt, beeinflussten die zur Verfügung stehenden Stickstoffmengen die relative Konzentration einiger Aminosäuren nicht. Aus diesem Grund konnten die Nährlösungskonzentrationen vernachlässigt werden, und die Daten wurden auf Unterschiede zwischen den verwendeten Blattlausarten getestet. Die Berechnung der Ähnlichkeitsanalyse nach Bray Curtis ergab signifikante Unterschiede (ANOSIM: $p = 0,029$; $R = 0,218$) zwischen den Proben, die mit den unterschiedlichen Blattlausarten gesammelt wurden. Um die Ursachen für diese Varianzen zu klären, wurden anschließend weitere statistische Tests (Mann-Whitney U Tests) gerechnet. Diese ergaben, dass es sowohl bei den nicht essentiellen, als auch bei den essentiellen Aminosäuren Unterschiede zwischen den zum Sammeln verwendeten Arten gab (Abbildung 23). Dabei fiel auf, dass in den mit *M. tanacetaria* gesammelten Phloemsaftproben die prozentualen Anteile der nicht essentiellen Aminosäuren (Glycin, Alanin) gegenüber den mit *U. tanaceti* gesammelten Proben tendenziell erhöht waren und der Anteil von Serin sogar signifikant erhöht war. Im Gegensatz dazu waren die prozentualen Anteile der essentiellen Aminosäuren Valin, Phenylalanin und Leucin bei den mit *U. tanaceti* gesammelten Proben signifikant höher als bei denen mit *M. tanacetaria* gesammelten. Die relativen Konzentrationen von Glutamin, Threonin, Isoleucin und Lysin unterschieden sich nicht zwischen den verwendeten Blattlausarten.

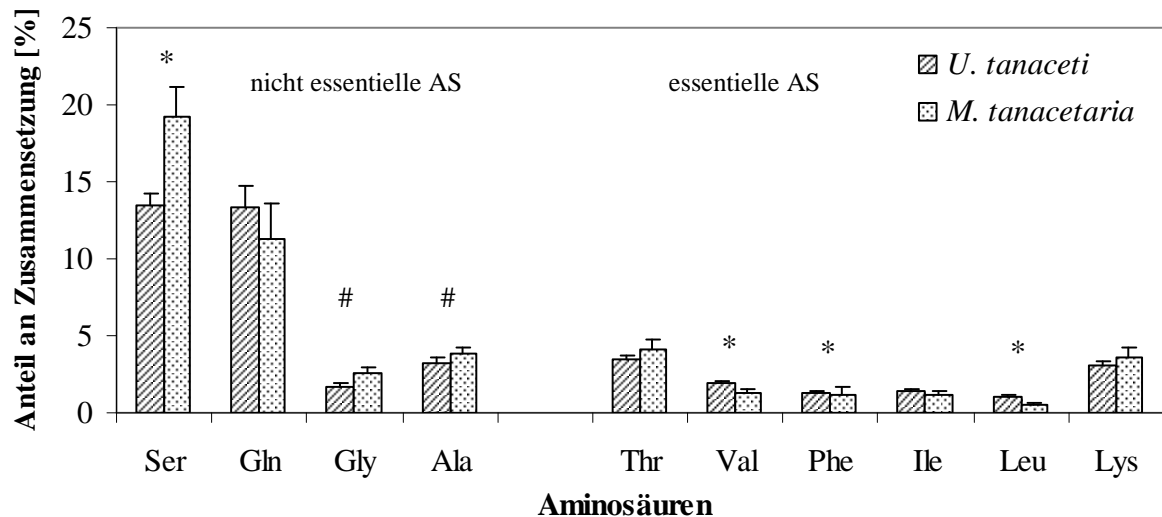


Abbildung 23: Vergleich der NH_4NO_3 -unabhängigen Aminosäuren im Phloemsaft nach Ansetzen der Blattlausarten *U. tanacetii* und *M. tanacetaria*. Stichprobengröße der verwendeten Pflanzen: $n = 46$ (*U. tanacetii*) und $n = 18$ (*M. tanacetaria*). Auf der linken Seite der Abbildung sind die nicht essentiellen, auf der rechten Seite die essentiellen Aminosäuren angeordnet. [Mann-Whitney U Tests: * steht für $p \leq 0,05$; # steht für $p \leq 0,10$]

Neben den Aminosäuren, die nicht durch die Stickstoffverfügbarkeit beeinflusst wurden, existierten auch Aminosäuren, die je nach Stickstoffkonzentration unterschiedliche prozentuale Anteile am Gesamtmuster aufwiesen. Bei diesen konnte die Düngungsmenge nicht vernachlässigt werden, weshalb Einflüsse der Blattlausarten auf der Ebene der unterschiedlichen Nährlösungskonzentrationen berechnet wurden. Tabelle 12 zeigt die Ergebnisse der statistischen Auswertung mittels Mann-Whitney U Tests.

Tabelle 12: Vergleich der NH_4NO_3 -konzentrationsabhängigen Aminosäuren unter Einfluss verschiedener Stickstoffkonzentrationen und unterschiedlicher Aphidenarten. Dargestellt sind die p-Werte aus einzelnen Mann-Whitney U Tests, wobei als Gruppenvariable die Blattlausart definiert wurde (fett gedruckt: signifikante Unterschiede).

NH_4NO_3 -Konzentration	Asp	Asn	Glu	Tyr	Arg	Met + Trp
1 mM	$p = 0,583$	$p = 0,180$	$p = 0,320$	$p = 0,931$	$p = 0,510$	$p < 0,001$
3 mM	$p = 0,770$	$p = 0,446$	$p = 0,133$	$p = 0,446$	$p = 0,521$	$p = 0,008$
6 mM	$p = 0,862$	$p = 0,379$	$p = 0,103$	$p = 1,000$	$p = 0,379$	$p = 0,004$
12 mM	$p = 0,510$	$p = 0,510$	$p = 0,510$	$p = 0,661$	$p = 0,180$	$p = 0,005$

Die paarweise Auswertung dieser Aminosäuren ergab, dass die verwendeten Blattlausarten einen zusätzlichen Einfluss auf die relative Konzentration von Methionin + Tryptophan hatten, welche bei den Pflanzen, an denen *U. tanacetii* saugte, um ein Vielfaches höher war als

bei jenen Pflanzen, an denen *M. tanacetaria* angesetzt war. Diese hoch signifikanten Unterschiede konnten für jede Nährlösungsstufe nachgewiesen werden (Abbildung 24).

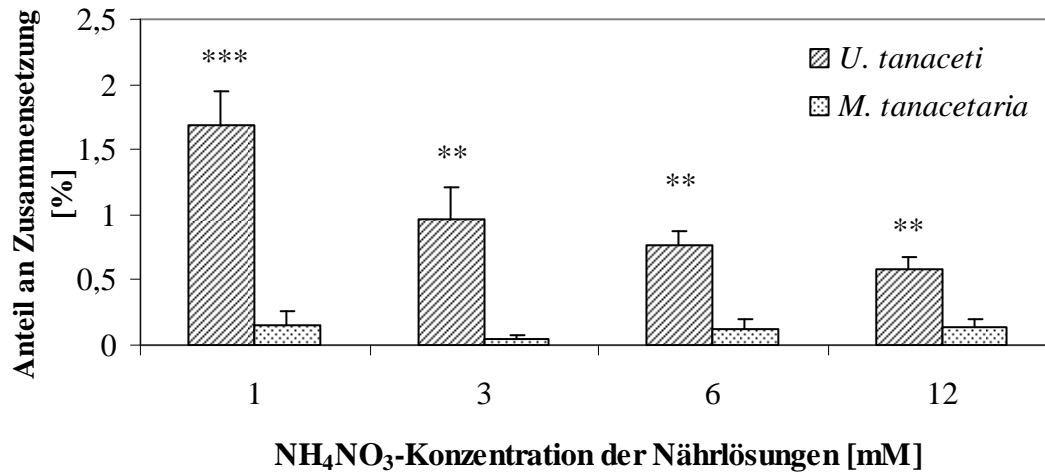


Abbildung 24: Vergleich der prozentualen Anteile von Methionin + Tryptophan am Gesamtspektrum des Phloemsaftes unterschiedlicher NH₄NO₃-gedüngter Pflanzen, an denen *U. tanacetia* bzw. *M. tanacetaria* saugten. Stichprobengröße der verwendeten Pflanzen: n = 46 (*U. tanacetia*) und n = 18 (*M. tanacetaria*). [Mann-Whitney U Tests: *** steht für $p \leq 0,001$; ** steht für $p \leq 0,01$]

3.6 Langzeitexsudation einer 3 mM NH₄NO₃-gedüngten Pflanze

Um die maximale Exsudationsdauer und Phloemsaftausbeute eines Stilettts herauszufinden, wurden von einer Pflanze so lange Proben gesammelt, bis die Exsudation zum Erliegen kam. Weiterhin wurden durch diesen Versuch die Variabilität der Aminosäuren im Zeitverlauf und der Einfluss von kurzzeitigem Stickstoffentzug bzw. -düngung untersucht.

3.6.1 Maximale Exsudationsdauer, Phloemsaftausbeute und Exsudationsgeschwindigkeit

Für diesen Versuch als sehr gut geeignet erwies sich eine 89 Tage alte Pflanze aus der ersten Pflanzengeneration, die bis zum Zeitpunkt der Stylektomie 43 Tage mit 3 mM Nährlösung angezogen wurde. Am zweiten Tag nach dem Ansetzen von *U. tanacetia* an ein Blatt aus dem unteren Drittel der Pflanze wurde eine kontinuierliche Exsudation erzielt, die 31 Tage anhielt und in deren Verlauf insgesamt 25080 nl Phloemsaft gesammelt werden konnte. Die Geschwindigkeit dieser Exsudation, die sich aus der Differenz der gesammelten Menge und der Sammelzeit berechnete, war am ersten Tag mit 86 nl/h am höchsten. Innerhalb

der folgenden Tage nahm die Geschwindigkeit etwas ab und lag in der ersten Woche durchschnittlich bei 65 nl/h (Abbildung 25).

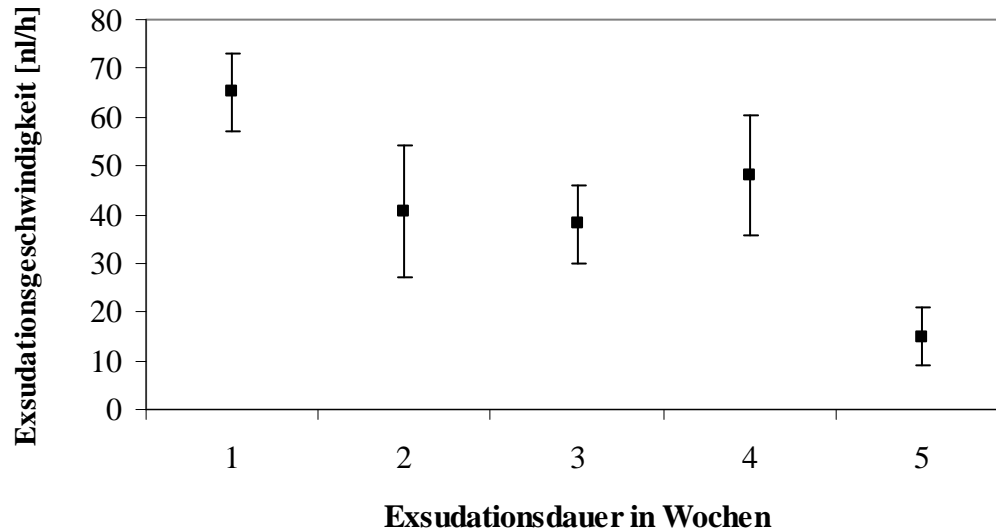


Abbildung 25: Durchschnittliche Exsudationsgeschwindigkeiten des Phloemsaftes eines Stilettts im Zeitverlauf von fünf Wochen. Aufgetragen sind die berechneten Mittelwerte und Standardfehler aus den Exsudationsgeschwindigkeiten (Phloemsaftmenge/Sammeldauer) aller gesammelten Proben jeder Woche.

Nach sieben Tagen musste die Pflanze umgestellt werden, um das Weiterarbeiten am Stylektomiearbeitsplatz zu ermöglichen. Dazu wurden alle sichtbaren Blattläuse entfernt, die Position des Stilettts markiert und die Pflanze in einem anderen Raum bei gleichen Bedingungen aufgestellt und weiterhin beprobt. Von der zweiten bis zur vierten Woche lagen die durchschnittlichen Exsudationsgeschwindigkeiten bei 38 - 48 nl/h, wobei die einzelnen Werte starken Schwankungen unterworfen waren. Nach diesen vier Wochen wurde eine drastische Verlangsamung der Exsudationsgeschwindigkeit verzeichnet. Die durchschnittliche Phloemsaftmenge pro Stunde betrug dann noch 15 nl, sodass die Tagesausbeute ca. 360 nl Phloemsaft entsprach. Am 31. Tag stoppte die Exsudation.

Betrachtete man den Verlauf der Exsudationsgeschwindigkeiten pro Woche, so ergab sich keine signifikante Korrelation zwischen den Datensätzen, sondern eine tendenzielle Verteilung (Pearson Korrelation: $p = 0,096$; $r = -0,81$; $n = 5$). Die Wochen zwei, drei und vier bildeten eine Art Plateau auf dem die Geschwindigkeit nahezu konstant blieb (Abbildung 25).

Am Ende des Versuchs war das verwendete Blatt vertrocknet, allerdings ohne vorher zu vergilben. Nach dem Umstellen in den anderen Raum in der zweiten Woche hatten Blattläuse der Art *A. fabae* die Pflanze besiedelt und saugten unter anderem auch an dem beprobten

Blatt. Durch das Ansetzen der Kapillare über dem Stilett hatte sich außerdem eine Druckstelle gebildet. Die Pflanze im Ganzen zeigte jedoch keine weiteren sichtbaren Schäden.

3.6.2 Variabilität der Aminosäurezusammensetzung des Phloemsaftes im Zeitverlauf

Da von der oben genannten Pflanze durchgängig Phloemsaftproben gesammelt werden konnten, war es möglich, Veränderungen der Aminosäurezusammensetzung im Zeitverlauf zu untersuchen. Insgesamt wurden 62 aufeinander folgende Proben von dieser Pflanze analysiert. Je nach Flussrate konnten anfangs täglich bis zu drei Proben abgenommen werden. Im Verlauf der Zeit reduzierte sich die Probenmenge auf zwei bzw. eine Probe pro Tag. Abbildung 26 zeigt die graphische Darstellung der Daten in Form einer Multidimensionalen Skalierung (MDS), welche auf den Ähnlichkeitsanalysen nach Bray Curtis basiert. In diese Berechnung sind die prozentualen Anteile jeder Aminosäure aller Proben eingeflossen.

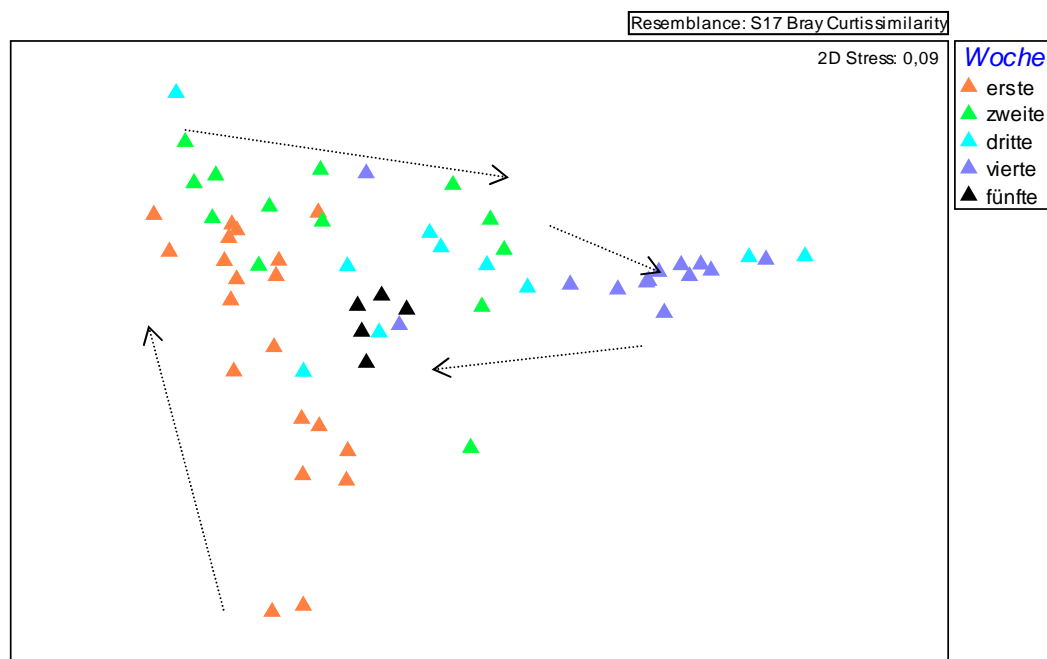


Abbildung 26: Multidimensionale Skalierung der Aminosäurezusammensetzung des Phloemsaftes im Zeitverlauf. Jedes Symbol steht für das Aminosäurespektrum einer Probe. Die unterschiedlichen Farben symbolisieren den Sammelzeitpunkt, wobei nach Wochen unterschieden wurde. Die Pfeile geben den zeitlichen Verlauf an.

Jeder abgebildete Punkt entspricht dabei einer Phloemsaftprobe, und die Entfernung zum nächsten Punkt gibt Auskunft darüber, wie ähnlich sich die dargestellten Proben waren. Eine daraus errechnete ANOSIM ergab, dass ein signifikanter Unterschied ($p < 0,001$) zwischen

den einzelnen Wochen bestand, obwohl die Variabilität innerhalb der Gruppen recht hoch war ($R = 0,424$). Die Proben der ersten Woche unterschieden sich signifikant von den Proben der zweiten bis vierten (Tabelle 13). Allerdings war die Variabilität innerhalb der ersten und zweiten Woche sehr hoch. Die Proben der zweiten Woche zeigten ebenso signifikante Unterschiede zu den Proben der dritten und vierten Woche. Die dritte Woche unterschied sich zudem von der vierten Woche und die vierte von der fünften. Keine Unterschiede wurden zwischen den Wochen eins bis drei im Vergleich zur fünften Woche festgestellt. Abbildung 26 bestätigt zudem, dass es eine Entwicklung der Probenähnlichkeit von der ersten zur vierten Woche gab (Pfeile) und die Proben der fünften Woche eine Rückentwicklung in Nähe der Proben der ersten drei Wochen zeigten.

Tabelle 13: Dargestellt sind die Ergebnisse der paarweisen Vergleiche der ANOSIM, die aus der Ähnlichkeitsmatrix nach Bray Curtis erstellt wurde. Fettgedruckt sind die Sammelzeitpunkte, die sich signifikant voneinander unterscheiden. R kann Werte zwischen -1 und 1 annehmen, wobei Werte, die gegen Null laufen, eine hohe Variabilität innerhalb der Gruppe angeben. Werte, die gegen 1 gehen, zeigen dagegen eine hohe Variabilität zwischen den Gruppen an.

Paarweise Vergleiche der Sammelzeiten	Signifikanzen	R-Wert
erste : zweite Woche	p = 0,008	0,197
erste : dritte Woche	p < 0,001	0,397
erste : vierte Woche	p = 0,001	0,845
erste : fünfte Woche	p = 0,088	0,172
zweite : dritte Woche	p = 0,034	0,148
zweite : vierte Woche	p < 0,001	0,638
zweite : fünfte Woche	p = 0,060	0,188
dritte : vierte Woche	p = 0,003	0,306
dritte : fünfte Woche	p = 0,456	-0,023
vierte : fünfte Woche	p = 0,002	0,600

3.6.3 Prozentuale Anteile einzelner Aminosäuren am Gesamtaminosäuremuster im Zeitverlauf

Der Vergleich der durchschnittlichen Häufigkeit jeder Aminosäure pro Woche zeigte, dass die Aminosäuren Aspartat, Asparagin, Glutamat, Glutamin, Serin, Arginin und Lysin die Zusammensetzung dominierten. Die Summe dieser Aminosäuren schwankte je nach Sammelwoche zwischen 86 - 96%, wobei die Reihenfolge der dominanten Aminosäuren nicht konstant blieb. Während in der ersten Woche Arginin den größten prozentualen Anteil am Aminosäurespektrum aufwies, war Aspartat die dominanteste Aminosäure in den Wochen

zwei bis fünf. Die relativen Häufigkeiten von Aspartat zeigten einen stetigen Anstieg von der ersten bis zur vierten Woche von 14 auf 51%. In der letzten Woche hingegen fiel der prozentuale Anteil auf 23% ab (Abbildung 27). Der Gehalt von Asparagin schwankte in den ersten vier Wochen um durchschnittlich 5%, in der letzten Woche erhöhte sich dieser jedoch auf 10%. Glutamat blieb relativ konstant auf einem durchschnittlichen Wert von 18%, wobei in der vierten Woche etwas geringere Glutamatkonzentrationen gemessen wurden. Der Gehalt von Glutamin hingegen zeigte einen extremen Abfall von 11% in der ersten Woche auf durchschnittlich 3% in den Wochen zwei bis fünf. Der relative Anteil von Serin blieb während der fünf Sammelwochen mit durchschnittlich 10% verhältnismäßig konstant, ein leichter Anstieg auf 12% konnte jedoch in der letzten Woche verzeichnet werden. Arginin konnte in den ersten zwei Wochen in hohen prozentualen Anteilen von jeweils 20% nachgewiesen werden. In den darauf folgenden Proben nahm dieser Anteil etwas ab und lag in den Wochen drei bis fünf bei durchschnittlich 13%, wobei die vierte Woche den niedrigsten Wert von 9% aufwies. Der Gehalt von Lysin variierte innerhalb der Versuchszeit um den Mittelwert von 6%, wobei besonders in den Wochen drei und vier niedrige Werte gemessen wurden. Bezog man die prozentualen Anteile aller Aminosäuren in die Betrachtung mit ein und verglich die Wochen untereinander, so zeigten auch die in geringeren Konzentrationen vorhandenen Aminosäuren signifikante Unterschiede zwischen verschiedenen Sammelzeitpunkten (Kruskal Wallis Test: $p \leq 0,035$).

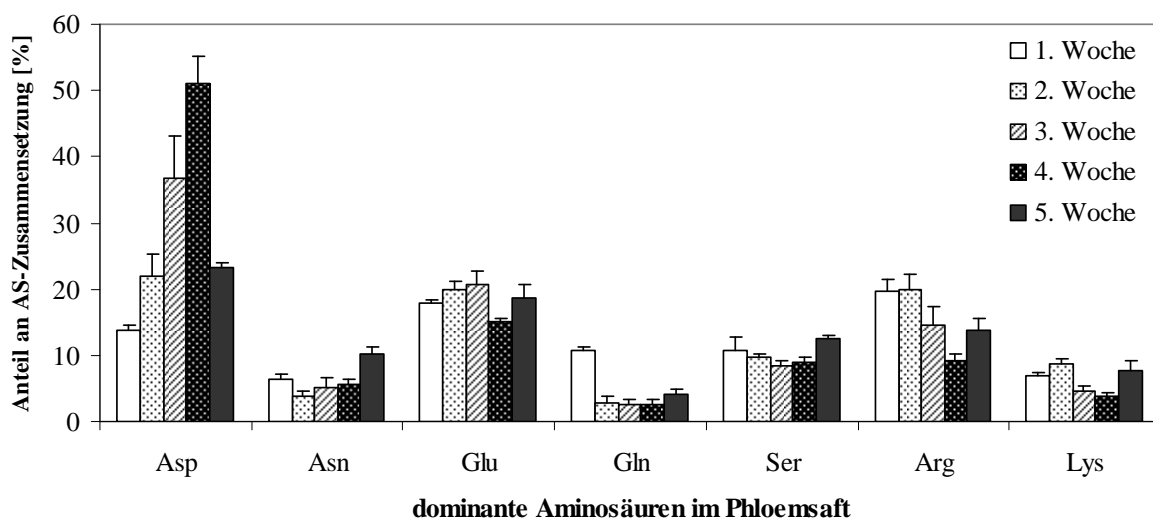


Abbildung 27: Vergleich der prozentualen Anteile (Mittelwert + Standardfehler) der dominanten Aminosäuren im Zeitverlauf von fünf Wochen.

3.6.4 Einfluss des Stickstoffangebotes auf die Variabilität des Aminosäurespektrums

Neben den Betrachtungen zum Einfluss von zeitlichen Effekten auf die Zusammensetzung der Aminosäuren im Phloemsaft wurde zusätzlich innerhalb der ersten drei Wochen die Stickstoffgabe variiert. Die Versuchspflanze wurde während ihres Wachstums mit 3 mM NH_4NO_3 -Nährlösung versorgt. Am fünften Tag der Exsudation wurde die Versorgung mit Nährelementen für drei Tage unterbrochen und die Pflanze ausschließlich mit Leitungswasser gegossen. Im Anschluss daran folgte eine zweitägige Stickstoffdüngung mit 6 mM NH_4NO_3 -Nährlösung, danach wurde die Stickstoffversorgung wieder auf 3 mM umgestellt. In der zweiten Woche wurde erneut eine Stickstoffdüngung mit 6 mM NH_4NO_3 -Nährlösung für vier Tage durchgeführt, die sich in die dritte Sammelwoche hinein erstreckte. Danach wurde die Pflanze bis zum Ende des Versuchs mit 3 mM Nährlösung versorgt.

Abbildung 28 zeigt die Multidimensionale Skalierung der Ähnlichkeitsmatrix nach Bray Curtis. Analog zu Abbildung 26 steht jedes Symbol für die Aminosäurezusammensetzung einer Probe. Die Sammelzeitpunkte sind durch gleiche Farben gekennzeichnet, während die N-Versorgung mit den unterschiedlichen Nährlösungen durch verschiedene Symbole innerhalb der Wochen dargestellt ist.

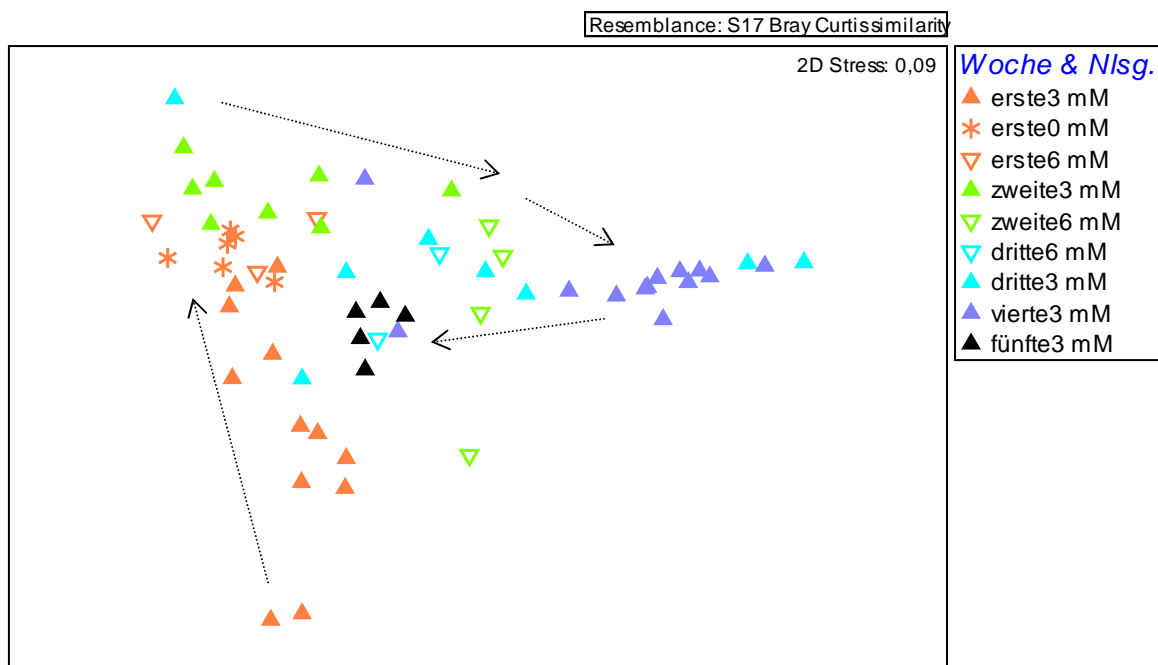


Abbildung 28: Multidimensionale Skalierung der Aminosäurezusammensetzung des Phloemsaftes im Zeitverlauf unter Einfluss unterschiedlicher Stickstoffdüngung. Jedes Symbol steht für das Aminosäurespektrum einer Probe. Die unterschiedlichen Farben zeigen den Sammelzeitpunkt (Wochen) an, die Symbole stehen für die Stickstoffkonzentration der Nährlösungen, und die Pfeile spiegeln den zeitlichen Verlauf wider.

Aus der Ähnlichkeitsmatrix wurde eine ANOSIM der kombinierten Daten von Nährlösung und Woche berechnet. Es konnte gezeigt werden, dass signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen existieren ($p = 0,001$; $R = 0,521$). Anschließend paarweise Vergleiche wurden durchgeführt. Zusätzlich zu den bereits errechneten signifikanten Unterschieden zwischen den Wochen (siehe Kapitel 3.6.2) konnten auch innerhalb der Wochen signifikante Unterschiede nachgewiesen werden (Tabelle 14). Es zeigten sich hierbei signifikante Unterschiede innerhalb der ersten Woche zwischen den Aminosäurespektren der 3 mM NH_4NO_3 -versorgten Pflanzen und den Proben nach Stickstoffentzug (0 mM) sowie den Proben nach Versorgung der Pflanzen mit 6 mM Nährlösung. Ein weiterer Wechsel der N-Konzentrationen in der zweiten Woche zeigte ebenso einen Effekt, wobei auch an dieser Stelle signifikante Unterschiede deutlich wurden. Die zweite Düngungsphase mit 6 mM Nährlösung zog sich in die dritte Woche hinein, weshalb sich die Proben dieser Sammelzeitpunkte stark ähnelten. Der letzte Wechsel von 6 mM zu 3 mM NH_4NO_3 -Nährlösung in der dritten Woche zeigte keinen signifikanten Einfluss auf die Zusammensetzung der Proben.

Tabelle 14: Auszug aus den Vergleichen von Sammelzeitpunkt und Nährlösungskonzentration der ANOSIM, erstellt aus der Ähnlichkeitsmatrix nach Bray Curtis. Fettgedruckt sind die Sammelzeitpunkte, bei denen die Nährlösungskonzentration einen signifikanten Unterschied ergaben; R kann Werte zwischen 0 und 1 annehmen, wobei Werte, die gegen Null laufen, eine hohe Variabilität innerhalb der Gruppe angeben und Werte, die gegen 1 gehen, eine hohe Variabilität zwischen den Gruppen anzeigen.

Paarweise Vergleiche der Nährlösungen innerhalb gleicher Wochen	Signifikanzen	R-Wert
1. Woche: 3 mM, 0 mM	p = 0,001	0,329
1. Woche: 0 mM, 6 mM	p = 0,131	0,244
1. Woche: 3 mM, 6 mM	p = 0,037	0,328
2. Woche: 3 mM, 6 mM	p = 0,002	0,809
2. Woche: 6 mM, 3. Woche: 6 mM	p = 0,400	0,071
3. Woche: 6 mM, 3 mM	p = 0,800	-0,267

3.6.5 Einfluss des Stickstoffangebotes auf die prozentualen Anteile einzelner Aminosäuren am Gesamtaminosäuremuster

Um zu klären, auf welche Aminosäuren der Stickstoffentzug (Versorgung der Pflanze nur mit Leitungswasser) oder die Stickstoffdüngung (6 mM Nährlösung) einen Einfluss hatte, wurden jene Aminosäurespektren der Proben detailliert untersucht, die signifikante Unterschiede zeigten (Tabelle 14). Die statistische Auswertung des Nährlösungswechsels

innerhalb der ersten Woche zeigte, dass die signifikanten Unterschiede zwischen den Proben auf Asparagin, Glutamin, Alanin (nicht bei 3/6 mM), Tyrosin und die essentiellen Aminosäuren Arginin, Methionin + Tryptophan, Valin, Phenylalanin, Isoleucin und Leucin zurückzuführen waren (Tabelle 15).

Tabelle 15: Ergebnisse der statistischen Auswertung (Mann-Whitney U Tests) der einzelnen Vergleiche nach Nährlösungswechsel. Angegeben sind die p-Werte, fettgedruckt sind Werte unter dem Signifikanzniveau.

Vergleich	Asp	Asn	Ser	Gln	Arg	Ala	Tyr	Met, Trp	Val	Phe	Ile	Leu	Lys
1. Woche 3/0 mM	0,50	0,05	0,39	<0,01	0,01	0,02	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	0,12
1. Woche 3/6 mM	0,61	0,03	0,30	0,04	0,04	0,11	0,03	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	0,03	0,30
2. Woche: 3/6 mM	<0,01	0,66	0,06	0,23	<0,01	0,02	<0,01	0,66	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	0,02

Während die relativen Konzentrationen der Aminosäuren Asparagin, Glutamin, Alanin und Methionin + Tryptophan nach Nährlösungsentzug geringer wurden (Abbildung 29), stiegen diese bei den übrigen Aminosäuren an. Den gleichen Effekt erzielte auch die Stickstoffdüngung mit 6 mM NH_4NO_3 -Nährlösung. Zwischen den Proben ohne Stickstoffzufuhr und den Proben nach Düngung konnten keine Unterschiede ermittelt werden.

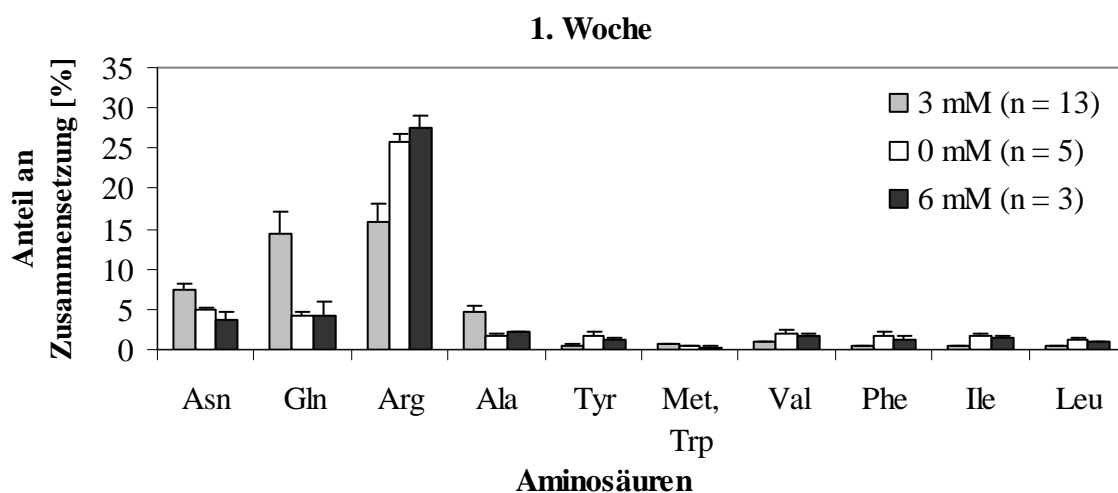


Abbildung 29: Prozentuale Verteilung der Aminosäuren (Mittelwerte + Standardfehler), die Unterschiede nach den Nährlösungswechseln in der 1. Woche zeigten. Signifikante Unterschiede wurden zwischen allen Aminosäuren der 3 mM Proben zu 0 mM Proben [Mann-Whitney U Test: $p < 0,046$] nachgewiesen. Mit Ausnahme von Alanin waren auch alle in der Grafik enthaltenen Aminosäuren der 3 mM Proben signifikant von den 6 mM Proben verschieden [Mann-Whitney U Test: $p < 0,039$].

Der Nährlösungswechsel in der zweiten Woche von 3 mM auf 6 mM NH_4NO_3 veränderte die relativen Konzentrationen der Aminosäuren Aspartat und Alanin, welche signifikant anstiegen (Abbildung 30). Die prozentualen Anteile der Aminosäuren Arginin, Tyrosin, Valin, Phenylalanin, Isoleucin, Leucin und Lysin hingegen fielen nach Erhöhung der Nährlösungskonzentration auf 6 mM NH_4NO_3 signifikant ab.

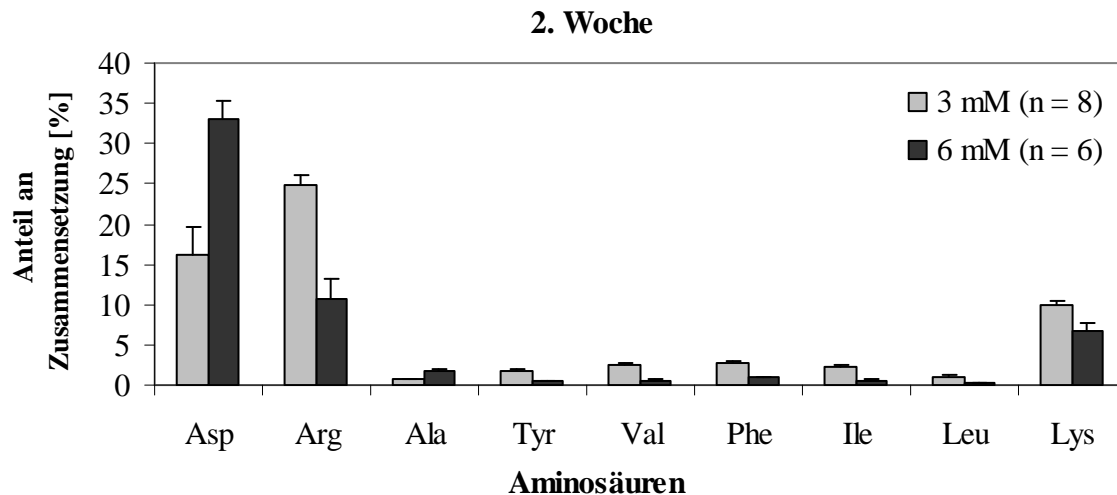


Abbildung 30: Prozentuale Verteilung der Aminosäuren (Mittelwerte + Standardfehler), die Unterschiede nach dem Nährlösungswechsel in der 2. Woche zeigten. Signifikante Unterschiede zwischen den Nährlösungen konnten für alle dargestellten Aminosäuren nachgewiesen werden [Mann-Whitney U Test: $p < 0,02$].

3.6.6 Einfluss des Stickstoffangebotes und der Zeit auf die Konzentrationen der Aminosäuren in Phloemsaftproben

Wurden an Stelle der prozentualen Zusammensetzung die Konzentrationen der Aminosäuren in den Phloemsaftproben für die Berechnung der Ähnlichkeitsmatrix nach Bray Curtis verwendet, dann zeigte die graphische Darstellung der Multidimensionalen Skalierung (Abbildung 31) eine gering abweichende Verteilung der Proben. Die anschließende Berechnung der ANOSIM ergab jedoch dieselben signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen, die bereits in den Kapiteln 3.6.2 und 3.6.4 beschrieben wurden. Aus dieser Berechnung ging hervor, dass sich die Proben der ersten Woche von allen anderen Proben unterschieden ($p \leq 0,01$; $R = 0,331$ bis $0,748$). Auch die zweite Woche war signifikant von den übrigen Wochen verschieden ($p \leq 0,005$; $R = 0,307$ bis $0,765$). Die Proben der dritten Woche unterschieden sich signifikant von der vierten Woche, obwohl die Varianzen innerhalb

der Gruppen sehr hoch waren ($p \leq 0,032$; $R = 0,190$). Keine Unterschiede gab es zwischen der dritten und der fünften Woche. Allerdings unterschied sich die vierte Woche wiederum signifikant von der fünften ($p \leq 0,004$; $R = 0,445$). Die Einflüsse der Nährlösungswechsel innerhalb der ersten zwei Wochen zeigten auch bei den betrachteten Konzentrationen Effekte. Es gab signifikante Unterschiede zwischen dem Wechsel von 3 mM auf 6 mM NH_4NO_3 -Nährlösung in der ersten Woche ($p \leq 0,01$; $R = 0,688$) und von 6 mM auf 3 mM NH_4NO_3 -Nährlösung in der zweiten Woche ($p \leq 0,004$; $R = 0,533$). Zusätzlich dazu konnte ein signifikanter Unterschied zwischen dem Nährlösungsentzug (0 mM) und der N-Düngung (6 mM NH_4NO_3) in der ersten Woche gezeigt werden ($p \leq 0,048$; $R = 0,964$).

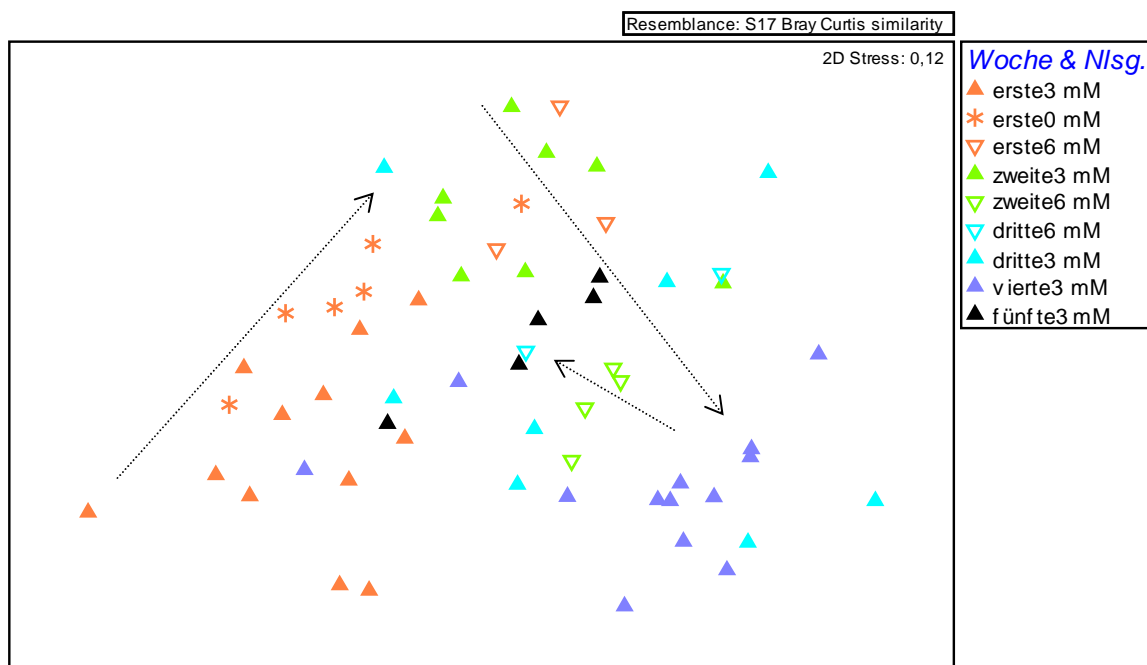


Abbildung 31: Multidimensionale Skalierung der Aminosäurekonzentrationen des Phloemsaftes im Zeitverlauf unter Einfluss unterschiedlicher Stickstoffdüngung [Ähnlichkeitsmatrix nach Bray Curtis]. Jedes Symbol steht für die Aminosäurekonzentrationen einer Probe. Die unterschiedlichen Farben zeigen den Sammelzeitpunkt (Wochen) an. Unterschiedliche Symbole stehen für die Stickstoffkonzentrationen der Nährlösungen, und die Pfeile spiegeln den zeitlichen Verlauf wider.

3.7 Vergleich mehrerer aufeinander folgender Phloemsaftproben einer Siebröhre und Aminosäurezusammensetzung verschiedener Siebröhren eines Blattes

Es sollte die Frage geklärt werden, wie homogen die Aminosäurezusammensetzung innerhalb einer Siebröhre und innerhalb eines Blattes ist. Dazu wurden von zehn Pflanzen mehrere aufeinander folgende Phloemsaftproben eines Stilettts bzw. einer Siebröhre gesammelt und deren Aminosäuregehalt analysiert. Des Weiteren wurden an vier dieser Pflanzen zusätzliche Siebröhren beprobt, um mögliche Unterschiede innerhalb eines Blattes aufzuzeigen.

Die Ähnlichkeiten der Proben, basierend auf deren Aminosäurezusammensetzungen, sind in Abbildung 32 und 33 graphisch dargestellt, wobei nach den für die Stylektomie verwendeten Blattlausarten unterschieden wurde.

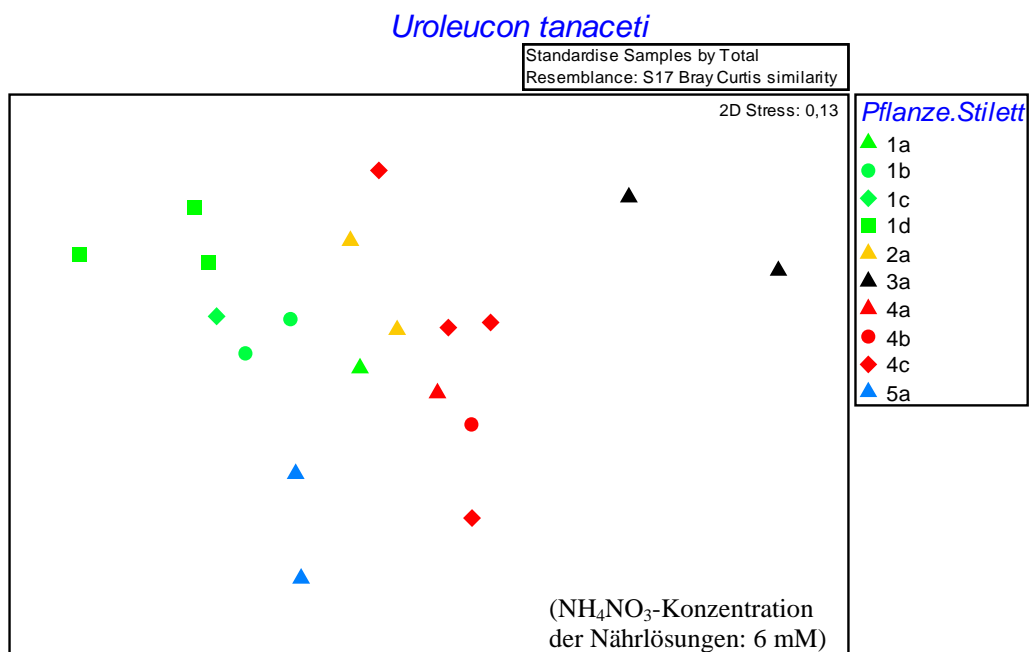


Abbildung 32: Multidimensionale Skalierung der Aminosäurezusammensetzung von Phloemsaftproben, die von 6 mM NH₄NO₃-gedüngten Pflanzen stammten und die nacheinander gesammelt wurden [Ähnlichkeitsmatrix nach Bray Curtis]. Gleiche Farben codieren gleiche Blätter bzw. Pflanzen, während die Symbole für verschiedene Siebröhren bzw. geschnittene Stilette stehen. Für die Stylektomie wurde *U. tanacetii* verwendet.

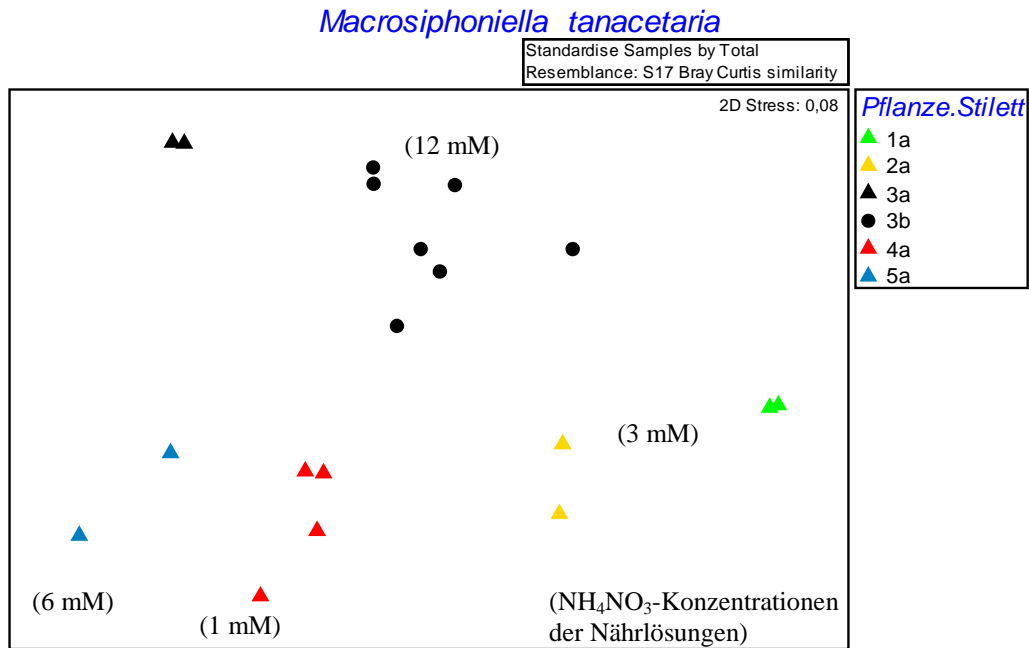


Abbildung 33: Multidimensionale Skalierung der Aminosäurezusammensetzung von Phloemsaftproben unterschiedlich N-versorgter Pflanzen, die nacheinander gesammelt wurden [Ähnlichkeitsmatrix nach Bray Curtis]. Gleiche Farben codieren gleiche Blätter bzw. Pflanzen, während die Symbole für verschiedene Siebröhren bzw. geschnittene Stilette stehen. Für die Stylektomie wurde *M. tanacetaria* verwendet.

Es wurden für jede Blattlausart aufeinander folgende Proben von je einem Blatt fünf verschiedener Pflanzen ausgewertet. Die Pflanzen, von denen mit *M. tanacetaria* Phloemsaftproben gesammelt wurden, waren unterschiedlich N-gedüngt. Hingegen stammten alle mit *U. tanacetii* gesammelten Phloemsaftproben von Pflanzen, die während des Wachstums mit 6 mM NH₄NO₃-Nährlösung versorgt wurden. Die statistische Auswertung der Ähnlichkeitsberechnung dieser Proben nach Bray Curtis ergab, dass dennoch signifikante Unterschiede zwischen den Proben der unterschiedlichen Pflanzen existierten (ANOSIM: $p = 0,0001$; $R = 0,693$). Allerdings konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den verschiedenen Siebröhren eines Blattes gefunden werden. Bei den Pflanzen, welche mit der Aphidenart *M. tanacetaria* beprobt wurden, konnten sowohl Unterschiede zwischen den Pflanzen (ANOSIM: $p < 0,001$; $R = 0,811$), als auch zwischen den zwei Siebröhren der dritten Pflanze (ANOSIM: $p = 0,028$; $R = 0,870$) nachgewiesen werden. Diese Verschiedenartigkeit der Siebröhren des gleichen Blattes beruhte auf den Aminosäuren Glutamat, Aspartat und deren Amide sowie auf Glycin, welche zwischen beiden Siebröhren signifikant unterschiedlich waren (Mann-Whitney U Tests: $p \leq 0,041$). In den Proben der ersten Siebröhre dominierten die Amide Asparagin und Glutamin mit einem Gesamtanteil von 53%.

Dieser lag bei den Proben der zweiten Siebröhre bei 30%, wohingegen der Anteil der Aminosäuren Aspartat, Glutamat und Glycin in diesen Proben erhöht war.

Betrachtete man die Ähnlichkeiten von mehreren hintereinander abgenommenen Proben einer Siebröhre, so wurde deutlich, dass es sowohl einander sehr ähnliche Proben (Abbildung 33: 1a, 3a), als auch stark voneinander abweichende Proben (Abbildung 32: 2a, 3a, 5a und Abbildung 33: 5a) gab. Außerdem kamen innerhalb einer Siebröhre auch beide Formen vor (Abbildung 33: 3b). Da für die Berechnung und die graphische Darstellung der nicht transformierte, originale Datensatz verwendet wurde, waren die dominanten Aminosäuren des Phloemsaftes (Kapitel 3.5.1 und 3.5.2) für die Ähnlichkeiten bzw. Unterschiede zwischen den Proben verantwortlich.

Neben der Aminosäurezusammensetzung verschiedener Siebröhren eines Blattes war auch die absolute Konzentration der Aminosäuren im Phloemsaft von Interesse. Da die Proben nicht unter konstanten Bedingungen (Temperatur, Luftfeuchtigkeit, Sammeldauer) gesammelt wurden, ist die Auswertung und Zuverlässigkeit dieser Daten problematisch. Dennoch soll die Gesamtaminosäurekonzentration des Phloemsaftes eines Blattes (Abbildung 33: Pflanze 3) exemplarisch für zwei Siebröhren dargestellt werden (Abbildung 34). Als die Proben gesammelt wurden, war die Luftfeuchtigkeit im Raum relativ konstant, während die Temperatur beim Beprobieren des zweiten Stilett um 5°C gegenüber dem ersten erhöht war. Die Sammeldauer variierte sehr stark, was sich aus den Exsudationsgeschwindigkeiten der Proben ableitete.

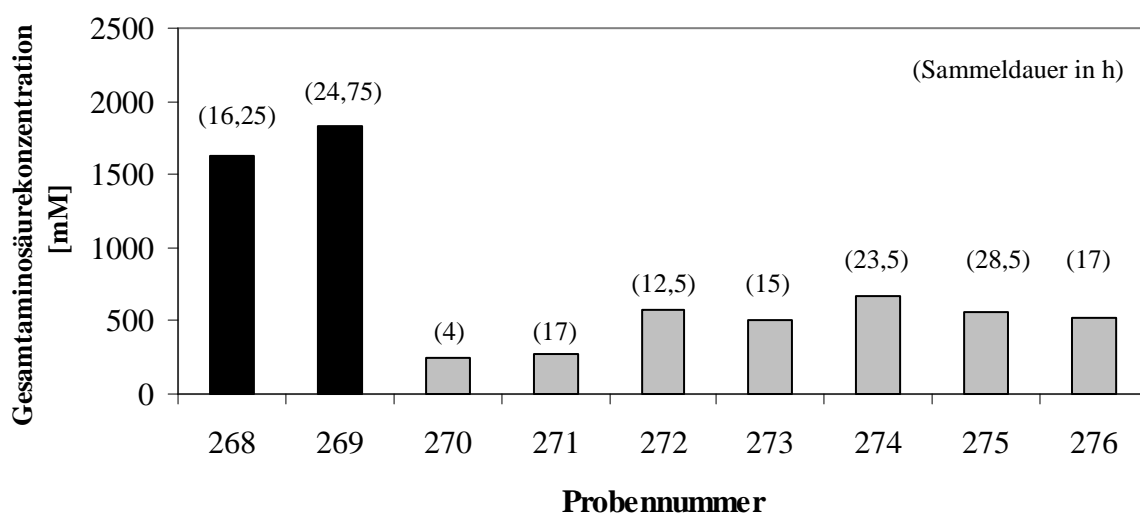


Abbildung 34: Gesamtaminosäurekonzentration aufeinander folgender Phloemsaftproben eines Blattes, wobei Proben zweier Siebröhren gesammelt wurden. Die Proben 268 - 269 (schwarz) und 270 - 276 (grau) entstammen jeweils einer Siebröhre bzw. einem Stilett. In Klammern ist die Sammelzeit der Exsudate vermerkt.

Der Vergleich der Aminosäurekonzentrationen der zwei Siebröhren zeigte, dass diese sehr unterschiedlich ausfallen können. Die Sammelzeit hatte darauf keinen Einfluss. So wurden beispielsweise die Proben Nr. 268 und 271 in ungefähr der gleichen Zeit gesammelt, doch unterschieden sich die Konzentrationen beider Proben um den Faktor sieben. Darüber hinaus wurden die Proben jeder Siebröhre in stark voneinander abweichenden Zeitspannen gesammelt, wobei die Gesamtaminosäurekonzentrationen der Proben jeder Siebröhre nicht erheblich voneinander abwichen. Ein Zusammenhang zwischen der Sammeldauer und den Gesamtaminosäurekonzentrationen konnte nicht verzeichnet werden (Korrelation nach Pearson: $p = 0,132$). Entscheidend für die Sammeldauer waren die Geschwindigkeiten der Exsudationen. Sie lagen bei den Proben der ersten Siebröhre (Nr. 268, 289) bei 4 - 7 nl/h und bei den Proben der zweiten Siebröhre (Nr. 270 - 276) bei 31- 121nl/h.

Auch bei den Pflanzen, deren Blätter von *U. tanaceti* besiedelt waren, gab es große Abweichungen zwischen den durchschnittlichen Exsudationsgeschwindigkeiten der geschnittenen Stilette. Diese schwankten bei den beprobten Siebröhren der ersten Pflanze zwischen 16 nl/h und 51 nl/h (Abbildung 32: Pflanze 1) und zwischen 9 nl/h und 36 nl/h bei den Stiletten der zweiten Pflanze (Abbildung 32: Pflanze 4).

3.8 Vergleich des Honigtaus von Blattläusen mit dem dazugehörigen Phloemsaft

Um zu untersuchen, welche Aminosäuren des Phloemsaftes für die Ernährung der Blattläuse von Bedeutung sind, wurde parallel zum Phloemsaft auch Honigtau von Blattläusen gesammelt. Die dafür vorgesehenen Blattläuse der Art *Metopeurum fuscoviride* hatten die Möglichkeit während der gesamten Zeit des Phloemsaftsammelns an der Pflanze zu saugen. Nachdem die Kapillare mit dem Phloemsaft abgenommen wurde, wurden auch die Blattläuse abgesammelt und direkt zur Abgabe von Honigtau (siehe Kapitel 2.10) bewegt. Der Honigtau und der dazugehörige Phloemsaft wurden in der gleichen Weise behandelt und analysiert.

3.8.1 Aminosäurekonzentrationen

Vergleicht man die Gesamtaminosäurekonzentration jeder Honigtauprobe mit deren dazugehöriger Phloemsaftprobe, so wird deutlich, dass die Blattläuse 60 - 99% der im Phloemsaft enthaltenen Aminosäuren aufnahmen. Durchschnittlich wurden 7% der Aminosäuren über den Honigtau wieder abgeben. Es gab allerdings keine Korrelationen

zwischen den Datensätzen (Pearson Korrelation: $p = 0,745$). Daher verhielt es sich nicht so, dass die zu dem Phloemsaft mit den höchsten Konzentrationen dazugehörige Honigtauprobe eine erhöhte Aminosäurekonzentration aufwies. Auch die Honigtauprobe mit der höchsten Aminosäurekonzentration stammte nicht von einer Pflanze mit überdurchschnittlicher Aminosäurekonzentration im Phloemsaft (Abbildung 35). Die Konzentrationen der Aminosäuren im Honigtau lagen bei 56% der Proben zwischen 10 und 60 mM, wobei der Rest der Proben meist Konzentrationen unter 10 mM aufwies (Minimum: 1,4 mM). Es wurde jedoch auch eine Probe mit einer Gesamtkonzentration von 223 mM analysiert. Bei 75% der Phloemsaftproben lag die Gesamtaminosäurekonzentration zwischen 200 - 700 mM.

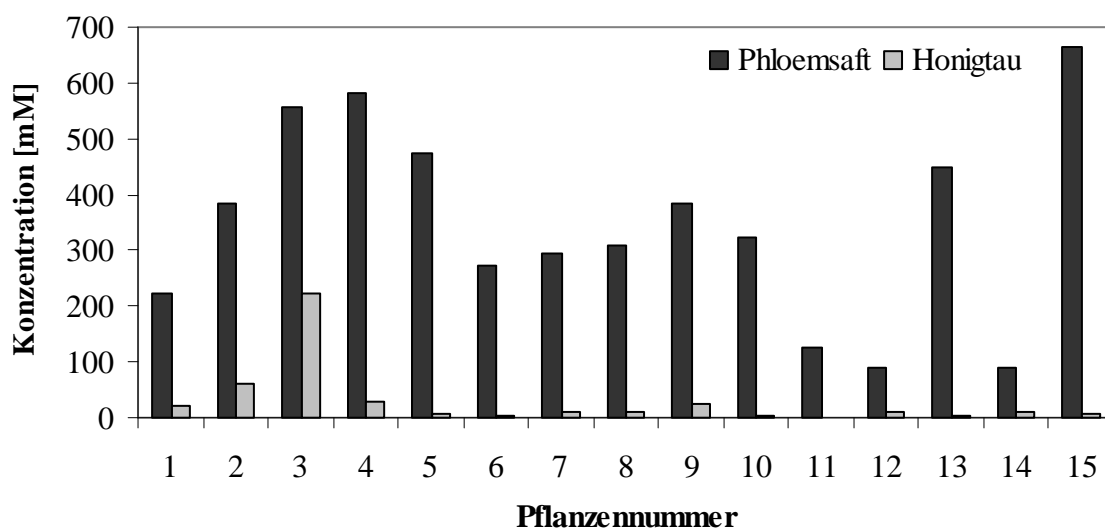


Abbildung 35: Vergleich der Aminosäurekonzentrationen von Honigtau und Phloemsaft

Alle in den Phloemsaftproben vorhandenen Aminosäuren konnten auch im Honigtau nachgewiesen werden. Die Multidimensionale Skalierung der Aminosäurekonzentrationen beider Probenarten ist in Abbildung 36 dargestellt. Die absolute Konzentration jeder Aminosäure einer Probe floss in diese Datenberechnung ein, und es wurden Ähnlichkeiten zwischen den Proben auf der Basis der Aminosäurekonzentrationen ermittelt. Die Phloemsaftproben liegen sehr dicht beieinander, was auf große Ähnlichkeiten dieser Proben zueinander hinweist. Die Honigtauproben hingegen variierten untereinander zum Teil sehr stark, was zu einer graphischen Streuung dieser Datenpunkte führte. Die statistische Auswertung ergab, dass sich die Gesamtheit der Phloemsaftproben höchst signifikant von der Gruppe der Honigtauproben unterschieden (ANOSIM: $p < 0,001$; $R = 0,753$).

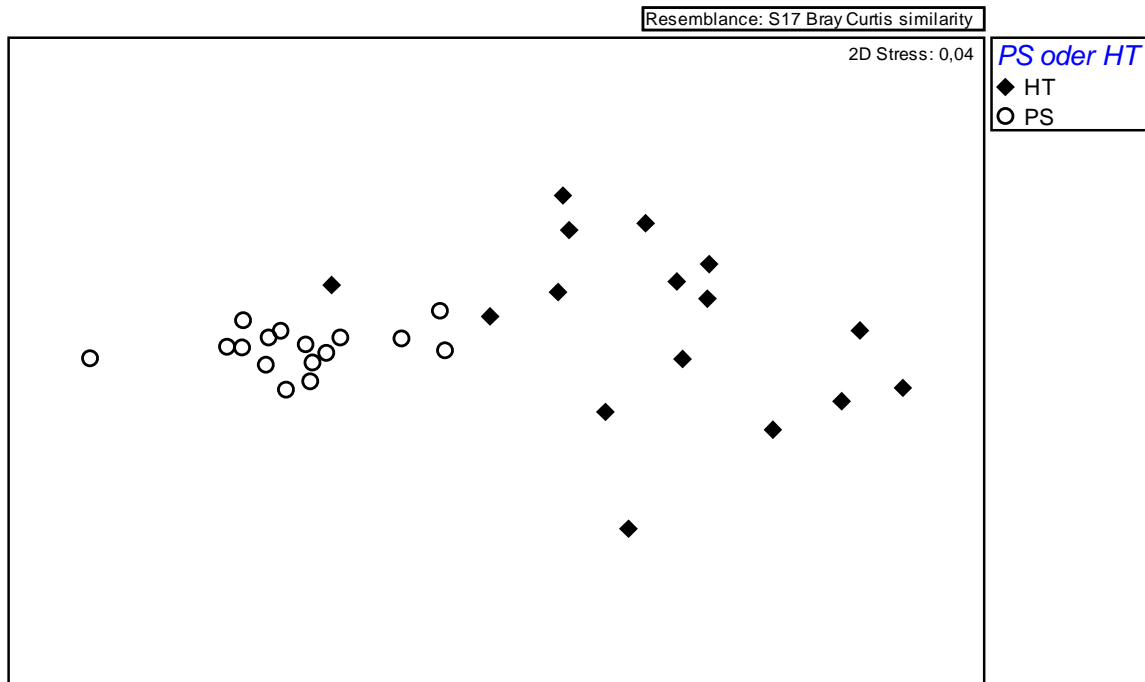


Abbildung 36: Multidimensionale Skalierung der Ähnlichkeiten des Phloemsaftes und der dazugehörigen Honigtauproben, basierend auf deren Aminosäurekonzentrationen [Ähnlichkeitsmatrix nach Bray Curtis]. Jedes Symbol steht für die Aminosäurekonzentrationen einer Probe. Die unterschiedlichen Symbole stellen die Probenart (HT: Honigtau; PS: Phloemsaft) dar.

Betrachtet man die Konzentrationen der einzelnen Aminosäuren (Abbildung 37), dann wird deutlich, dass alle Aminosäuren im Honigtau signifikant geringer konzentriert waren als im dazugehörigen Phloemsaft. Diese lagen teilweise unter 1 mM (Phenylalanin: 0,9 mM, Isoleucin: 0,9 mM, Tyrosin: 0,7 mM, Methionin + Tryptophan: 0,1 mM). In höheren Konzentrationen konnten im Honigtau hingegen Aspartat (12,7 mM), Asparagin (14,3 mM), Glutamat (5,3 mM), Glutamin (5,1 mM) und Serin (19 mM) nachgewiesen werden. Die Konzentrationen der essentiellen Aminosäuren im Honigtau und im Phloemsaft verglichen mit der jeweiligen Gesamtaminosäurekonzentration wiesen zudem auf Unterschiede zwischen Honigtau und Phloemsaft hin. Im Honigtau machten diese einen durchschnittlichen prozentualen Anteil von 15% an der Gesamtaminosäurekonzentration aus, im Phloemsaft hingegen belief sich dieser Wert auf 22%.

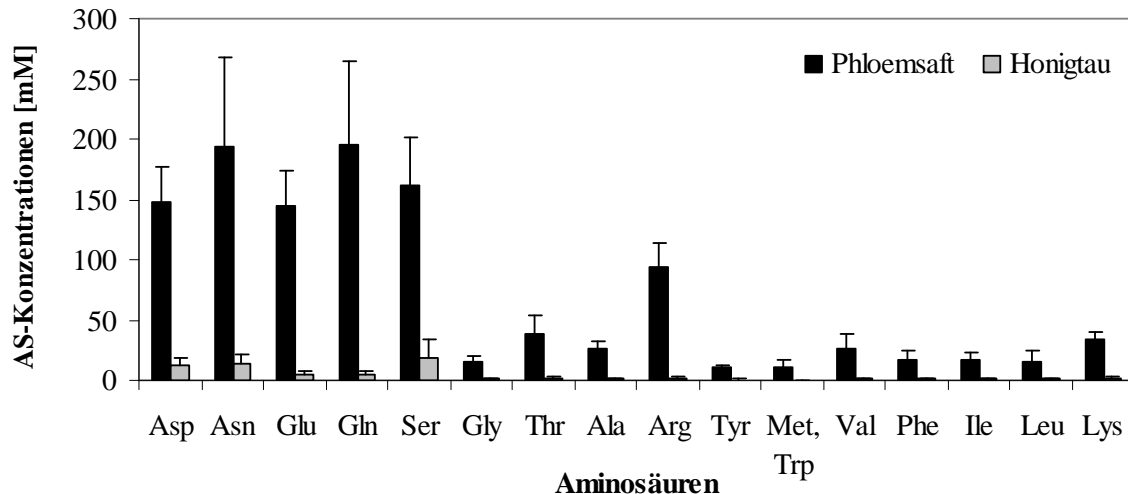


Abbildung 37: Vergleich der Konzentrationen (Mittelwerte + Standardfehler) der Aminosäuren von Phloemsaft- und Honigtauproben. Im Honigtau sind alle Aminosäuren signifikant geringer konzentriert als im dazugehörigen Phloemsaft [Mann-Whitney U Test: $p < 0,001$]. Es konnten in beiden Probenarten alle Aminosäuren nachgewiesen werden, wobei Konzentrationen < 1 mM graphisch nicht dargestellt sind.

3.8.2 Aminosäurezusammensetzung

Vergleicht man anstelle der absoluten Konzentrationen der Aminosäuren beider Probenarten deren Aminosäurezusammensetzung miteinander, so wird zunächst ein ähnliches Muster deutlich (Abbildung 38). Die dominanten Aminosäuren des Phloemsaftes (Aspartat, Asparagin, Glutamat, Glutamin und Serin) konnten auch im Honigtau am häufigsten nachgewiesen werden. Dennoch unterschieden sich beide Probentypen signifikant voneinander (Ähnlichkeitsanalyse nach Bray Curtis, ANOSIM: $p < 0,001$; $R = 0,22$). Die Berechnung der prozentualen Anteile jeder Aminosäure an den Gesamtspektren machte die Unterschiede deutlich. So waren die Aminosäuren Glutamat, Glutamin sowie Arginin und Methionin + Tryptophan im Honigtau gegenüber dem Phloemsaft signifikant reduziert. Hingegen war der Gehalt von Phenylalanin im Honigtau signifikant höher als im Phloemsaft. Weitere signifikante Unterschiede konnten zwischen den Honigtau- und den Phloemsaftproben nicht nachgewiesen werden.

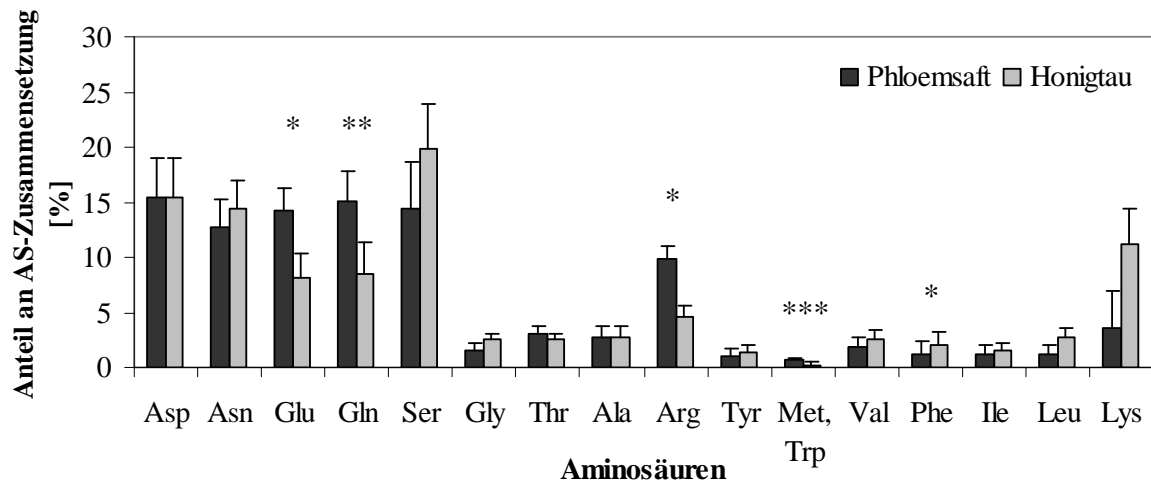


Abbildung 38: Vergleich der Aminosäurezusammensetzung (Mittelwerte + Standardfehler) von Honigtauproben und den dazugehörigen Phloemsaftproben. [Mann-Whitney U Tests: * steht für $p \leq 0,05$; ** steht für $p \leq 0,01$; *** steht für $p \leq 0,001$]

3.9 Saccharosekonzentrationen im Phloemsaft

Es wurden die Saccharosekonzentrationen von 120 Phloemsaftproben bestimmt, wobei diese während des Sammelns unterschiedlich lange den Raumbedingungen ausgesetzt waren. Die gemessenen Saccharosekonzentrationen der Proben schwankten um den Mittelwert von $1,3 \pm 0,5$ M, wobei jene über die Sammelzeit leicht anstiegen (Abbildung 39). Eine positive Korrelation zwischen den Saccharosekonzentrationen im Phloemsaft und der Sammeldauer der Proben konnte nachgewiesen werden (Pearson Korrelationen: $p = 0,002$; $r = 0,283$; $n = 120$). Daher konnte davon ausgegangen werden, dass die Saccharosekonzentrationen derjenigen Proben, die über einen langen Zeitraum hinweg gesammelt wurden, ursprünglich etwas niedriger waren.

Eine Korrektur der Werte um den gemessenen Verdunstungsfaktor (siehe Kapitel 3.10) für die unterschiedlichen Sammelzeiten bei einer angenommenen Saccharosekonzentration von 1 M ergab, dass die Phloemsaftproben eine Ausgangskonzentration von mindestens 0,9 M hatten.

Die Aminosäurekonzentrationen und die Exsudationsgeschwindigkeiten der Proben hatten keinen Einfluss auf die Saccharosekonzentration. Ebenso bestand kein Zusammenhang zwischen den Saccharosekonzentrationen und den verwendeten Blattlausarten,

Blattpositionen, Pflanzenalter oder NH_4NO_3 -Konzentrationen der Nährlösungen, mit denen die Pflanzen angezogen wurden.

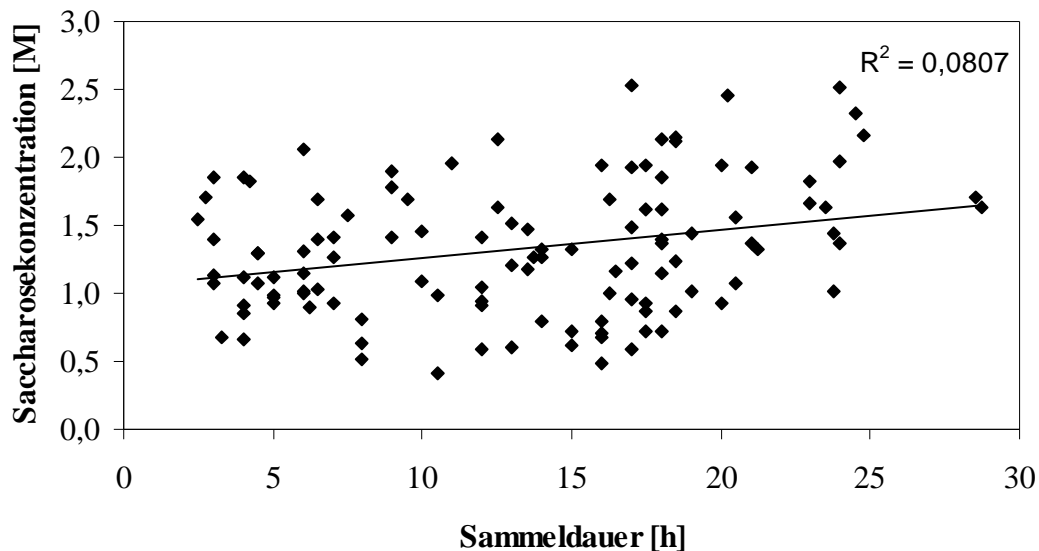


Abbildung 39: Korrelation zwischen den Saccharosekonzentrationen des Phloemsafes und der Sammeldauer der Proben [Pearson Korrelationen: $p = 0,002$; $r = 0,283$; $n = 120$].

3.10 Verdunstungseffekte an künstlichem Phloemsaft

Um die Verdunstungsverluste während des Sammelns von Phloemsaft bei Raumtemperaturen (23 - 26°C) und relativer Luftfeuchtigkeit von 30 - 56% abschätzen zu können, wurden Versuche durchgeführt, bei denen wässrige Lösungen mit definierten Saccharose- und Aminosäurekonzentrationen diesen Bedingungen ausgesetzt waren. Ausgehend von komplett gefüllten 500 nl Kapillaren war dabei die Stärke der Volumenabnahme in den Kapillaren von der Saccharosekonzentration der Lösungen abhängig (Abbildung 40). Der am höchsten konzentrierte künstliche Phloemsaft (4 M Saccharose) zeigte die geringsten Verdunstungsverluste. Nach einer 24stündigen Versuchsdauer war das Volumen in den Kapillaren auf einen Wert von 455 ± 4 nl gesunken. Die Kapillaren, die mit der 2 M Saccharoselösung gefüllt waren, hatten hingegen eine ähnliche Volumenabnahme bereits nach drei Stunden erreicht. Am Ende des Versuches musste ein Verlust von 145 ± 8 nl verzeichnet werden. Die 1 M Saccharoselösung zeigte noch stärkere Verdunstungsverluste. Nach Ablauf der 24 Stunden war nur noch ein Volumen von 283 ± 13 nl in der Kapillare. Der größte Verdunstungseffekt konnte bei der 0,5 M Lösung beobachtet werden. Diese zeigte bereits nach zwei Stunden eine Volumenabnahme von ca. 100 nl. Im weiteren Verlauf nahm

die Verdunstungsgeschwindigkeit stark ab. Mit dem Endvolumen von 215 ± 61 nl war dennoch mehr als die Hälfte des künstlichen Phloemsaftes in der Kapillare innerhalb eines Tages verloren gegangen. Die unterschiedlichen Luftfeuchtigkeiten im Raum während der Versuche hatten einen relativ geringen Einfluss auf die Verdunstungsintensitäten. Am stärksten war deren Auswirkung auf die am niedrigsten konzentrierte Saccharoselösung, die entsprechende Abweichungen zeigte.

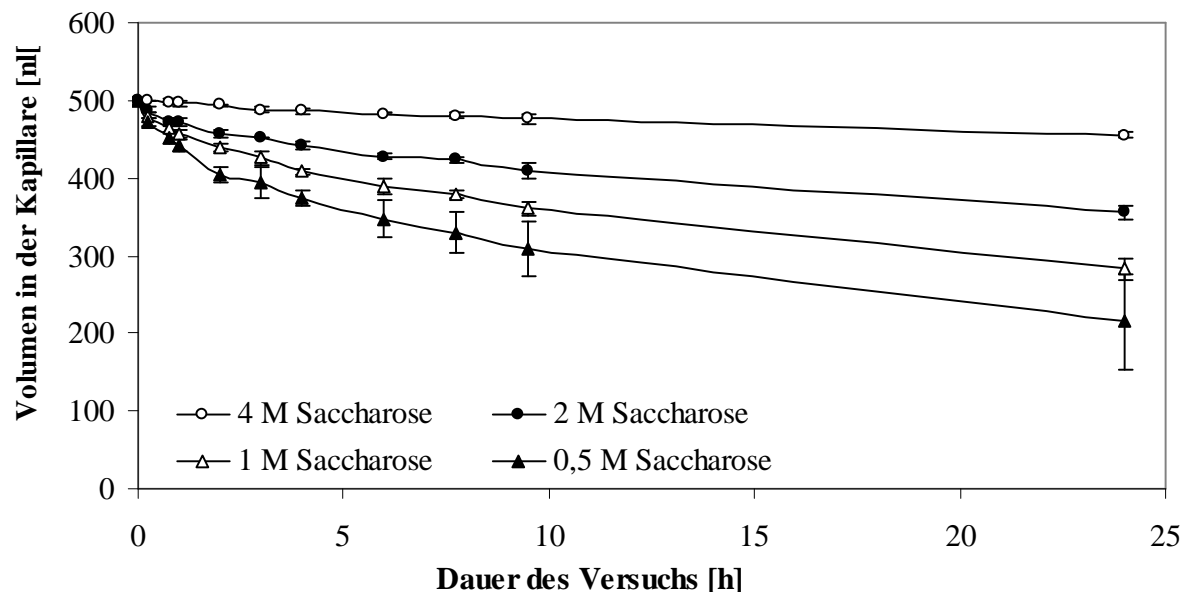


Abbildung 40: Verdunstungsverluste an künstlichem Phloemsaft, welcher aus einer 1 M Aminosäurelösung mit unterschiedlichen Saccharosekonzentrationen bestand, im Verlauf von 24 Stunden. Dargestellt sind die Mittelwerte und Standardabweichungen von vier unabhängigen Versuchen bei Raumtemperatur (23 - 26°C) und relativen Luftfeuchtigkeiten von 30 - 56%.

Aus diesen Daten konnten die prozentualen Verdunstungsverluste für die unterschiedlichen Saccharosekonzentrationen und Sammelzeiten berechnet werden (Tabelle 16), mit deren Hilfe Korrekturen der gemessenen Saccharosekonzentrationen möglich waren.

Tabelle 16: Prozentuale Volumenänderung von je 500 nl künstlichem Phloemsaft mit unterschiedlichen Saccharosekonzentrationen im Verlauf von 24 Stunden.

Saccharose-konzentration	Versuchsdauer [h]									
	0,25	0,75	1	2	3	4	6	7,75	9,5	24
4 M	0%	0%	-1%	-1%	-2%	-3%	-3%	-4%	-5%	-9%
2 M	-2%	-5%	-5%	-9%	-9%	-12%	-14%	-15%	-18%	-29%
1 M	-4%	-7%	-9%	-12%	-15%	-18%	-22%	-24%	-28%	-43%
0,5 M	-5%	-10%	-12%	-19%	-21%	-25%	-30%	-34%	-38%	-57%

3.11 Untersuchungen des Stickstoffeinflusses auf Wachstumsparameter

3.11.1 Frisch- und Trockengewicht der ober- und unterirdischen Biomasse

Der Einfluss der Stickstoffkonzentrationen der verwendeten Nährlösungen auf die ober- und unterirdische Biomasse wurde untersucht, indem die Frisch- und Trockengewichte von 30 Pflanzen bestimmt wurden. Es konnte gezeigt werden, dass das Frischgewicht der Sprosse zum einen abhängig ist vom Alter der Pflanzen (Pearson Korrelation: $p = 0,049$; $r = 0,363$; $n = 30$), zum anderen aber auch von den NH_4NO_3 -Konzentrationen der verwendeten Nährlösungen (Pearson Korrelation: $p < 0,001$; $r = 0,796$; $n = 30$). Mit zunehmender Stickstoffversorgung wurde ein Anstieg im Frischgewicht der Pflanzen verzeichnet (Abbildung 41).

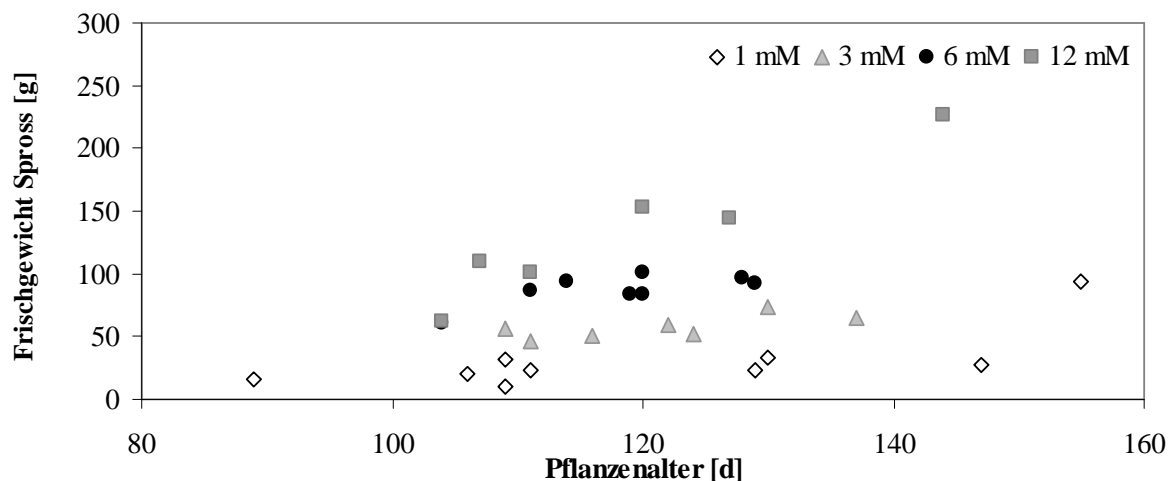


Abbildung 41: Frischgewicht von 89 - 155 Tage alten Rainfarnpflanzen, die während ihres Wachstums mit Nährlösungen unterschiedlicher NH_4NO_3 -Konzentration versorgt wurden.

Die Zunahme des Frischgewichtes der oberirdischen Biomasse, bedingt durch die NH_4NO_3 -Konzentrationen der Nährlösungen, hatte auch einen Einfluss auf das Wurzel/Spross-Verhältnis der Pflanzen (Korrelation nach Spearman: $p = 0,003$; $r_s = -0,524$; $n = 30$). Es konnte gezeigt werden, dass dieses abnahm, je mehr Stickstoff den Pflanzen zum Wachstum zur Verfügung stand (Tabelle 17). Dieser Zusammenhang kam in erster Linie dadurch zustande, da die Sprosse dem Stickstoffangebot entsprechend wuchsen, das Wurzelwachstum hingegen verhältnismäßig konstant war. Bei den Pflanzen der 6 mM

NH_4NO_3 -Versorgung wurde das geringste Wurzeltrockengewicht gemessen, was dazu führte, dass das Wurzel/Spross-Verhältnis bei diesen Pflanzen am niedrigsten ausfiel.

Tabelle 17: Auswirkungen der Zunahme der Stickstoffkonzentration in den Nährlösungen auf das Trockengewicht der Sprosse und Wurzeln sowie auf das Wurzel/Spross-Verhältnis. Dargestellt sind Mittelwerte \pm Standardabweichungen ($n = 30$).

NH_4NO_3 -Konzentration	durchschnittliches Trockengewicht [g]		Wurzel/Spross-Verhältnis
	Sprosse	Wurzeln	
1 mM	6,76 \pm 5,12	9,58 \pm 8,24	1,42
3 mM	14,45 \pm 2,57	8,01 \pm 5,26	0,55
6 mM	16,57 \pm 4,25	4,60 \pm 2,95	0,28
12 mM	19,44 \pm 7,29	9,47 \pm 10,19	0,49

Die Bestimmung des Frisch- sowie des Trockengewichtes der oberirdischen Pflanzenteile ermöglichten auch die Berechnung des Wassergehaltes der Pflanzen. Dieser stieg mit zunehmender NH_4NO_3 -Konzentration signifikant an (Pearson Korrelation: $p < 0,001$; $r = 0,689$; $n = 30$). Der durchschnittliche Wassergehalt 1 mM gedüngter Pflanzen lag bei 77% (Abbildung 42), während 12 mM gedüngte Pflanzen einen Wert von 84% aufwiesen.

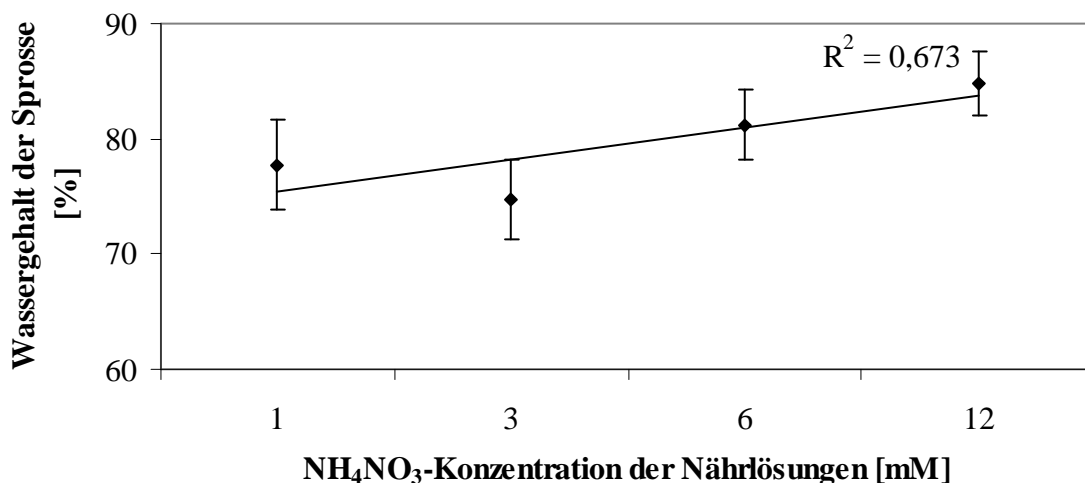


Abbildung 42: Wassergehalt von 89 - 155 Tage alten Rainfarnpflanzen, die während ihres Wachstums mit Nährlösungen unterschiedlicher NH_4NO_3 -Konzentration versorgt wurden.

3.11.2 Blattflächen

Um zu überprüfen, ob die unterschiedlichen Stickstoffkonzentrationen der Nährlösungen einen Einfluss auf die Anzahl und/oder Größe der photosynthetisch aktiven Blätter hatten, wurde die gesamte Blattfläche von 28 Pflanzen bestimmt. Die Pflanzen wurden mit den vier verschiedenen NH_4NO_3 -Konzentrationen über einen Zeitraum von 37 - 87 Tagen angezogen, was einem Pflanzenalter von 100 - 150 Tagen entsprach. Die gemessenen Blattflächen dieser Pflanzen zeigten eine starke Abhängigkeit (Pearson Korrelation: $p < 0,001$; $r = 0,779$; $n = 28$) von den N-Konzentrationen der Nährlösungen (Abbildung 43). Je mehr Stickstoff den Pflanzen während ihres Wachstums zur Verfügung stand, desto mehr und/oder größere Blätter wurden gebildet. Das unterschiedliche Pflanzenalter hatte natürlich auch einen Einfluss auf die Blattflächen und führte zu den in Abbildung 43 gezeigten Abweichungen vom Mittelwert. Eine signifikante Korrelation zwischen dem Pflanzenalter und den Blattflächen konnte jedoch nur bei den Pflanzen nachgewiesen werden, die mit der 12 mM NH_4NO_3 -Nährlösung angezogen wurden.

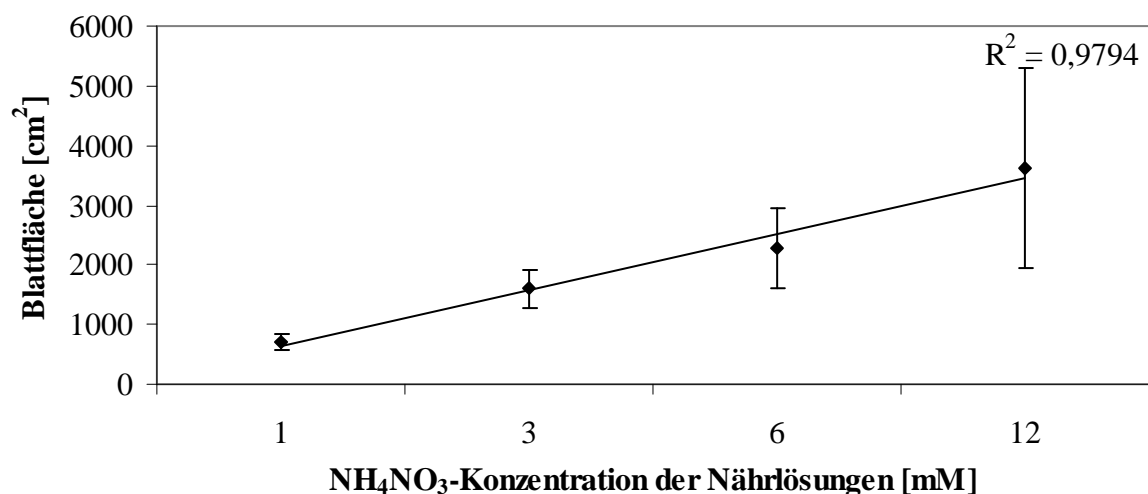


Abbildung 43: Blattflächen von 100 - 150 Tage alten Rainfarnpflanzen, die während ihres Wachstums mit Nährlösungen unterschiedlicher NH_4NO_3 -Konzentration versorgt wurden. Abgebildet sind Mittelwerte und Standardabweichungen.

3.11.3 C/N-Gehalte von Blättern NH_4NO_3 -gedüngter Versuchspflanzen im Vergleich zu Freilandpflanzen natürlicher Rainfarnstandorte

Der prozentuale Anteil von Kohlenstoff und Stickstoff im Blattmaterial gibt Auskunft über den Ernährungszustand einer Pflanze. Um festzustellen, ob die für die Herstellung der Nährlösungen verwendeten Stickstoffkonzentrationen zu einer Mangelernährung oder Überdüngung geführt haben könnten, wurden die C/N-Gehalte von 38 unterschiedlich NH_4NO_3 -gedüngten, im Gewächshaus angezogenen Pflanzen analysiert. Zusätzlich dazu wurden Proben von 30 Rainfarnpflanzen an deren natürlichen Standorten auf dem Universitätsgelände gesammelt und deren C/N-Gehalte bestimmt.

Der Vergleich der Stickstoffgehalte der Blattproben von Gewächshaus- und Freilandpflanzen zeigt, dass die Gewächshauspflanzen eine breitere Streuung im Bereich der Stickstoffgehalte aufweisen (Abbildung 44).

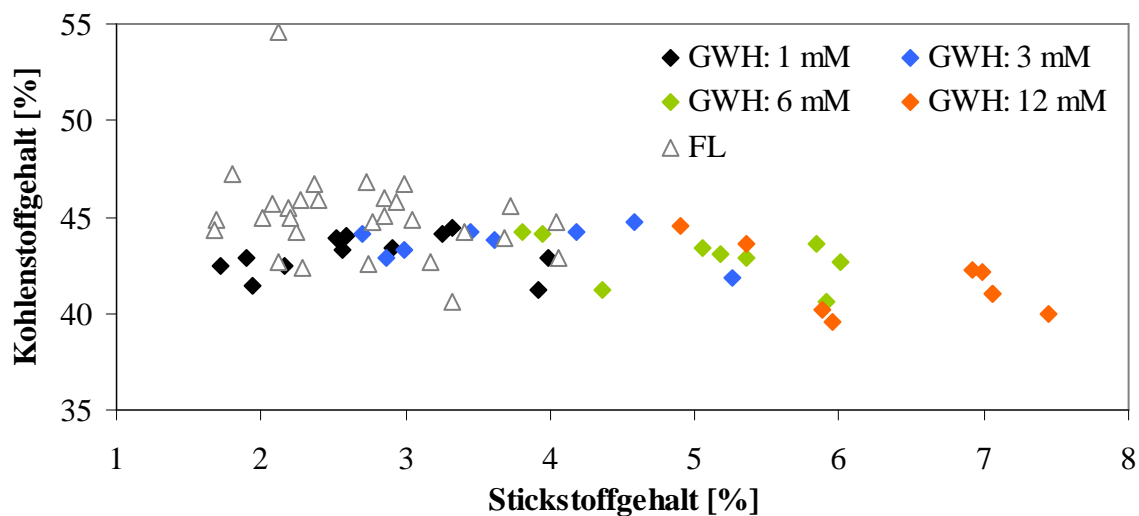


Abbildung 44: Kohlenstoff- und Stickstoffgehalte von getrockneten Blattproben unterschiedlicher Rainfarnstandorte. Die Gewächshauspflanzen (GWH) wurden mit definierten NH_4NO_3 -Konzentrationen angezogen, während die Freilandpflanzen (FL) den Nährstoffbedingungen ihrer natürlichen Standorte unterlagen.

Die prozentualen Anteile von Stickstoff in den Blattproben lagen bei den Gewächshauspflanzen zwischen 1,8 und 7,4%, während die Freilandpflanzen nur einen Bereich von 1,7 bis 4,1% abdeckten. Die Kohlenstoffgehalte hingegen lagen bei den Pflanzen beider Standorte durchschnittlich bei 43%, wobei hier die Freilandpflanzen etwas stärker um den Mittelwert streuten. Zwischen den Stickstoff- und den Kohlenstoffgehalten der Proben

gab es zudem einen signifikanten Zusammenhang. Je mehr Stickstoff im Gewebe der Pflanzen nachgewiesen wurde, desto weniger Kohlenstoff war enthalten (Korrelation nach Spearman: $p < 0,001$; $r_s = -0,5$; $n = 68$).

Da sich die C/N-Gehalte der Freilandpflanzen mit denen der Gewächshauspflanzen überschneiden, konnte davon ausgegangen werden, dass bestimmte NH_4NO_3 -Konzentrationen der Nährlösungen den natürlichen Bedingungen an Rainfarnstandorten entsprachen. Für eine konkrete Zuordnung der Ernährungsbedingungen der Freilandpflanzen wurden deren C/N-Verhältnisse gebildet und mit jenen der unterschiedlich N-versorgten Gewächshauspflanzen verglichen (Abbildung 45). Das durchschnittliche Verhältnis von Kohlenstoff zu Stickstoff betrug bei den Freilandpflanzen 18:1, was dem mittleren C/N-Verhältnis von 17:1 der 1 mM NH_4NO_3 -ernährten Pflanzen des Gewächshauses entsprach.

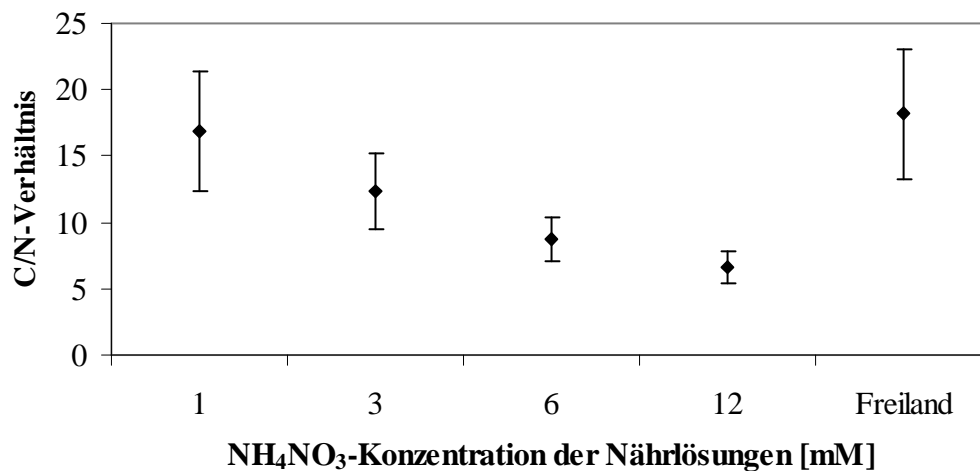


Abbildung 45: C/N-Verhältnisse unterschiedlicher NH_4NO_3 -gedüngter Gewächshauspflanzen ($n = 38$) im Vergleich zu dem C/N-Verhältnis von Freilandpflanzen ($n = 30$). Abgebildet sind Mittelwerte \pm Standardabweichungen.

Es kann demzufolge davon ausgegangen werden, dass den beprobten Pflanzen im Freiland ähnliche Stickstoffkonzentrationen zur Verfügung standen, wie den 1 mM Pflanzen im Gewächshaus. Die C/N-Verhältnisse der Pflanzen, welche mit mehr Stickstoff im Gewächshaus angezogen wurden unterschieden sich alle signifikant von den Freilandpflanzen (paarweise Mann-Whitney U Tests: $p \leq 0,002$).

Weiterhin konnte nachgewiesen werden, dass das Verhältnis von Kohlenstoff zu Stickstoff kleiner wurde, je höher die NH_4NO_3 -Konzentration der Nährlösungen war (Korrelation nach Spearman: $p < 0,001$; $r_s = -0,9$; $n = 38$).

3.12 Bestimmung des Ammonium- und Nitratgehaltes von Bodenproben natürlicher Rainfarnstandorte

Da es bisher keine Angaben zum Stickstoffbedarf von Rainfarn gab, wurden Bodenproben in unmittelbarer Nähe von zehn natürlichen Rainfarnbeständen bezogen und deren Ammonium- und Nitratgehalte ermittelt.

Da beide Ionen für die Pflanzen nur verfügbar sind, wenn diese gelöst im Bodenwasser vorkommen, wurde zunächst der Wassergehalt der Bodenproben bestimmt (Abbildung 46). Dieser schwankte witterungsbedingt zwischen den Monaten. Der durchschnittliche Wassergehalt der frischen Bodenproben war im Mai 2006 mit 20% am höchsten. Im Juni 2006 betrug dieser 11% und im Juli 2006 wurde der niedrigste Wert von 8% ermittelt.

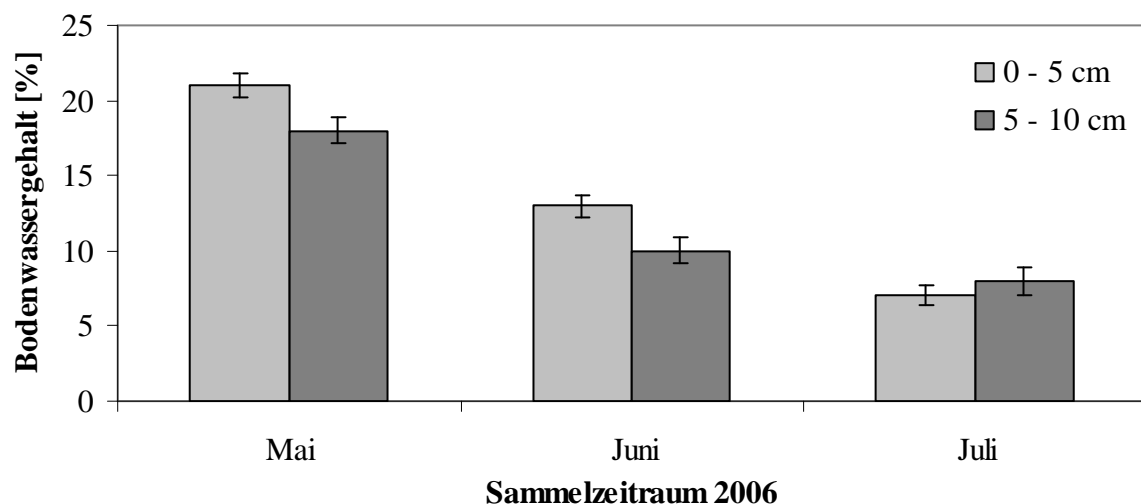


Abbildung 46: Bodenwassergehalte natürlicher Rainfarnstandorte (n = 10) auf dem Universitätsgelände in den Monaten Mai bis Juli 2006 in zwei unterschiedlichen Tiefenschichten (0 - 5 cm, 5 - 10 cm). Dargestellt sind Mittelwerte \pm Standardfehler.

Die Bodenproben wurden in die Tiefenschichten 0 - 5 cm und 5 - 10 cm eingeteilt und die Daten für beide Schichten erhoben. Die Wassergehalte waren in den tieferen Bodenschichten im Mai und Juni etwas niedriger, verglichen mit den dazugehörigen oberen Bodenschichten, im Juni dagegen etwas höher.

Die durchschnittlichen Ammoniumkonzentrationen waren in den Monaten Mai und Juni 2006 relativ ähnlich, wobei im Juni die Konzentration in der 5 - 10 cm Schicht signifikant niedriger war, als in der darüber liegenden Bodenschicht (Abbildung 47). Die NH_4 -

Konzentrationen dieser Standorte entsprachen den Ernährungsbedingungen der Gewächshauspflanzen, welche mit den 1 mM Nährlösungen angezogen wurden. Die Ammoniumkonzentrationen der im Juli 2006 gemessenen Bodenproben waren signifikant höher als in den Bodenproben der vorangegangenen Monate (Mann-Whitney U Tests: $p \leq 0,002$). Sie lagen im Durchschnitt bei 4 mM für die obere Bodenschicht und bei 2 mM für die untere Bodenschicht. Der Unterschied zwischen beiden Schichten war dabei signifikant.

Im Verlauf dieser Bodenuntersuchungen gab es nur eine Probe deren NH_4 -Konzentration über 6 mM lag (8,8 mM). Höhere Konzentrationen wurden nicht festgestellt.

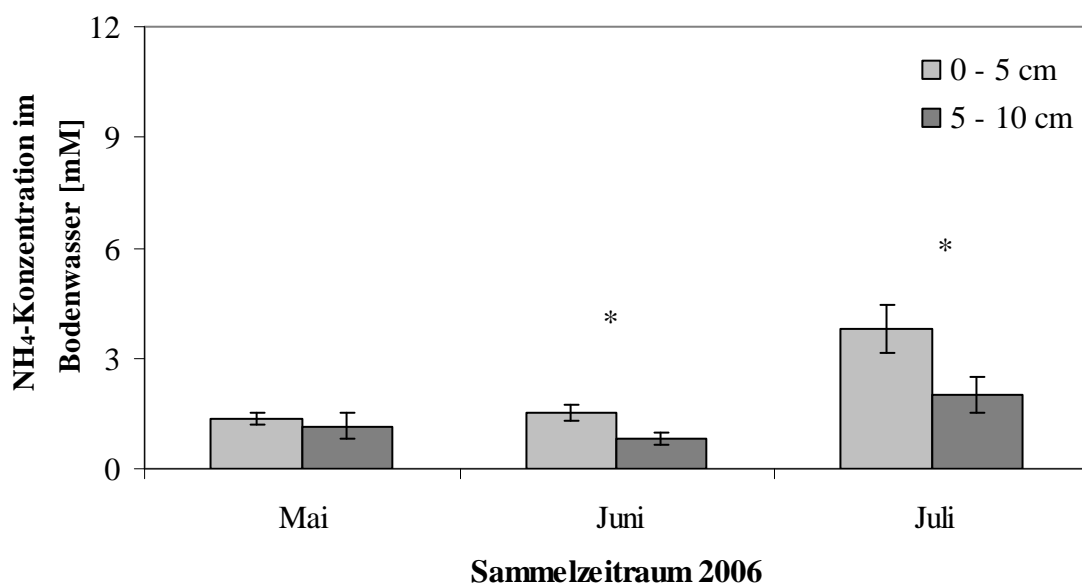


Abbildung 47: NH_4 -Konzentrationen im Bodenwasser natürlicher Rainfarnstandorte ($n = 10$) des Universitätsgeländes in den Monaten Mai bis Juli 2006 in den Tiefenschichten 0 - 5 cm und 5 - 10 cm. Signifikante Unterschiede zwischen den Tiefenschichten konnten für Juni und Juli nachgewiesen werden [Mann-Whitney U Tests: * steht für $p \leq 0,05$]. Dargestellt sind Mittelwerte \pm Standardfehler.

Die in den Bodenproben gemessenen Nitratkonzentrationen unterschieden sich zu keinem Zeitpunkt signifikant zwischen den Schichttiefen (Abbildung 48). Allerdings gab es höchst signifikante Unterschiede zwischen den Monaten [Mann-Whitney U Tests: $p \leq 0,001$]. Die Konzentrationen, die im Mai und im Juli 2006 gemessen wurden, lagen zu 95% unter 1 mM. Im Juni 2006 wurden hingegen sehr viel höhere Nitratkonzentrationen im Boden gemessen. Deren Mittelwert lag bei 3,3 mM, wobei Werte bis zu 8,7 mM gemessen wurden. Die Ergebnisse der Messungen von Mai und Juli 2006 wiesen dagegen darauf hin, dass die 1 mM Nährlösung über einen völlig ausreichenden Nitratgehalt zum Wachstum der Pflanzen verfügt hätte, wobei auch Nitratkonzentrationen von 3 und 6 mM im Boden gefunden wurden.

Die 12 mM Nährlösungen beinhalteten hingegen Ammonium- und Nitratkonzentrationen, wie sie bei diesen punktuellen Datenerhebungen an den natürlichen Standorten kaum vorkamen.

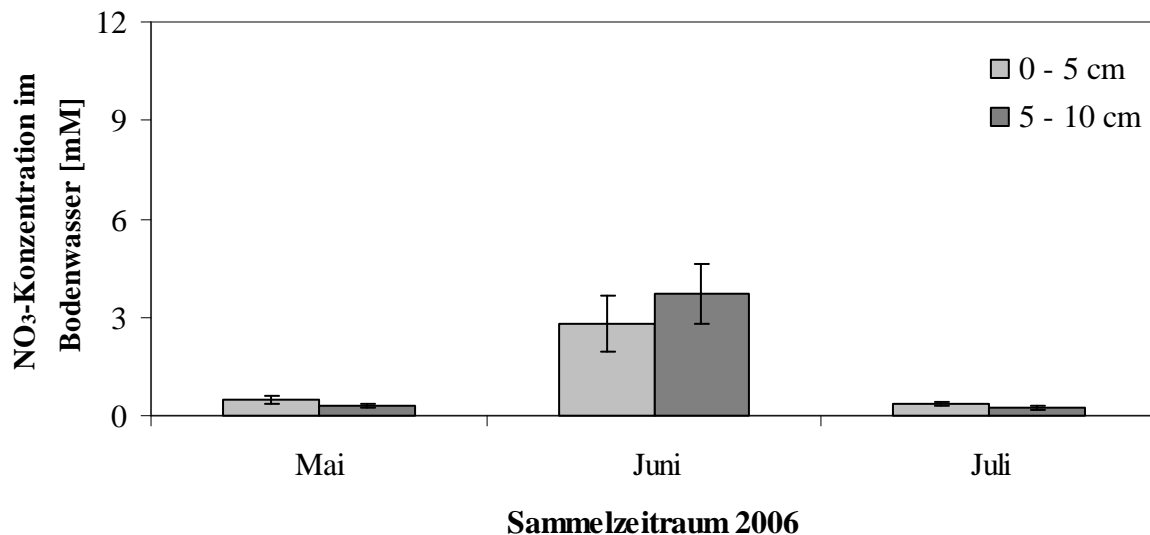


Abbildung 48: NO_3^- -Konzentrationen im Bodenwasser natürlicher Rainfarnstandorte ($n = 10$) des Universitätsgeländes in den Monaten Mai bis Juli 2006 in den Tiefenschichten 0 - 5 cm und 5 - 10 cm. Dargestellt sind Mittelwerte \pm Standardfehler.

Neben den bereits besprochenen Parametern wurde außerdem der pH-Wert der Bodenproben bestimmt. Dieser lag im Monat Mai 2006 bei durchschnittlich $6,8 \pm 0,7$ und entsprach damit ungefähr dem pH-Wert der Nährlösungen. Weitere pH-Wert Bestimmungen wurden nicht vorgenommen, da dieser Wert im unbeeinflussten Boden relativ konstant ist.

3.13 Untersuchungen zum Such- und Saugverhalten von Blattläusen an unterschiedlich NH_4NO_3 -gedüngten Pflanzen mittels Electrical Penetration Graph (EPG)

Es galt zu untersuchen, ob die zum Sammeln von Phloemsaft verwendeten Blattlausarten *U. tanacetii* und *M. tanacetaria* Unterschiede in der Zusammensetzung der Aminosäuren des Phloemsaftes wahrnehmen und an unterschiedlich Stickstoff gedüngten Pflanzen ein abweichendes Such- und Saugverhalten zeigen. Zu diesem Zweck wurden Verhaltensbeobachtungen mittels EPG durchgeführt, wobei beide Arten unabhängig voneinander untersucht und miteinander verglichen wurden. Es wurden 121 Individuen der Art *U. tanacetii* und 85 Tiere der Art *M. tanacetaria* innerhalb der ersten acht Stunden nach dem Ansetzen auf bis dahin nicht von Blattläusen befallenen, unterschiedlich Stickstoff gedüngten Rainfarnpflanzen beobachtet. Die Beobachtung und Auswertung folgender Parameter war möglich: Anzahl von Blatt-, Zell- und Phloemanstichen, Suchdauer im Gewebe und Dauer bis zum Auffinden des Phloemgewebes, Dauer des Saugens von Xylem- und Phloemsaft sowie Dauer und Häufigkeit von Stilettführungsproblemen. Für eine bessere Vergleichbarkeit zwischen den Individuen wurden bei der Auswertung von Zeitperioden die relativen Werte verwendet. Diese errechneten sich aus den prozentualen Anteilen eines Verhaltens an der Gesamtdauer der Such- und Saugtätigkeiten im Pflanzengewebe.

3.13.1 Gesamtdauer der Such- und Saugaktivitäten im Pflanzengewebe

Insgesamt konnten 604 Stunden Verhaltensbeobachtungen an *U. tanacetii* und 488 Stunden an *M. tanacetaria* ausgewertet werden. Dabei betrug die durchschnittliche Aktionsdauer im Pflanzengewebe im Falle von *U. tanacetii* 5 Stunden pro Individuum und Messung, im Falle von *M. tanacetaria* 5,5 Stunden. Unterschiede zwischen den Pflanzen verschiedener Stickstoffversorgung konnten dabei für keine der Blattlausarten nachgewiesen werden. Dies sprach dafür, dass die Pflanzen trotz unterschiedlichen Ernährungszustandes keinen Anlass zur Bevorzugung oder Ablehnung durch die Tiere gaben.

Die Differenz zwischen Messdauer und auswertbarer Aktionszeit im Gewebe ergab sich aus der Dauer des Herumlaufens auf dem Blatt, welches für die Suche eines geeigneten Saugplatzes benötigt wurde. Zudem brauchten die Tiere eine gewisse Zeit, um zum normalen Suchverhalten überzugehen und Stress abzubauen, welcher durch Arbeitsschritte, die unmittelbar vor den Messungen ausgeführt werden mussten, eventuell entstanden war.

3.13.2 Anzahl von Gewebe-, Zell- und Phloemanstichen

Die Blattläuse der Art *U. tanacetii* stachen durchschnittlich zwölfmal das Pflanzengewebe während einer Messung an, wobei bei 3% der Tiere beobachtet werden konnte, dass diese nur einmal das Blatt penetrierten und dann während der gesamten Messung im Gewebe verblieben. Unterschiede im Verhalten an Pflanzen verschiedener Stickstoffversorgung wurden nicht deutlich. Auch *M. tanacetaria* differenzierte nicht zwischen verschiedenen NH_4NO_3 -versorgten Pflanzen. Hingegen zeigten diese Blattläuse signifikant mehr Blatteinstiche (Abbildung 49a). Der Median bei diesen Tieren lag bei 16 Einstichen pro Individuum und Messung. Allerdings benötigte auch bei dieser Art 2% der Tiere nur eine einzige Blattpenetration, nach der sie für die gesamte Messdauer innerhalb des Gewebes verblieben.

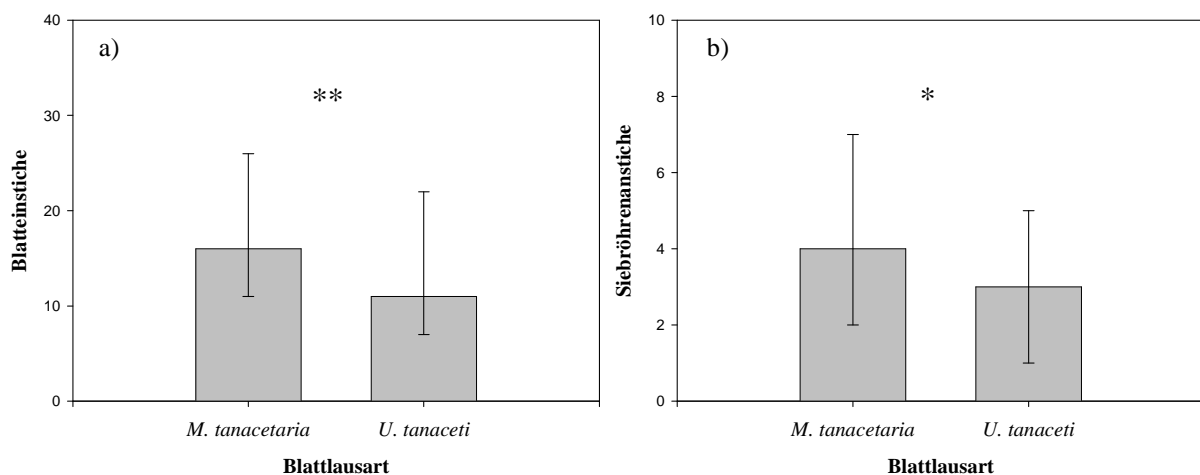


Abbildung 49: Vergleich der Anzahl von a) Blatt- und b) Siebröhrenanstichen pro Individuum und Messung zwischen den Blattlausarten *U. tanacetii* und *M. tanacetaria*. Dargestellt sind Mediane ± Quartile. [Mann-Whitney U Tests: ** steht für $p \leq 0,01$; * steht für $p \leq 0,05$]

Die Anzahl der Zellen, welche auf der Suche nach dem Phloem- oder dem Xylemgewebe angestochen wurden, lag bei *U. tanacetii* bei 178 und bei *M. tanacetaria* bei 139 (angegeben ist jeweils der Median der Daten). Beide Arten benötigten demzufolge ähnlich viele Zellanstiche, um das Phloem oder das Xylem im Blatt zu finden. Unterschiede zwischen verschiedenen NH_4NO_3 -gedüngten Pflanzen konnten bei beiden Arten nicht nachgewiesen werden.

Während der Messungen fanden 77% der beobachteten *U. tanacetii* das Phloemgewebe. Allerdings akzeptierten nur 27% dieser Aphiden die gefundenen Siebröhren. Die anderen

Tiere zogen ihr Stilet wieder zurück und suchten erneut nach Phloemsaft. Der Median der Siebröhrenanstiche lag bei dieser Art bei drei Anstichen pro Messung. Die Blattläuse differenzierten dabei nicht zwischen den verschieden gedüngten Pflanzen. Dies galt auch für *M. tanacetaria*, von denen 71% aller beobachteten Tiere innerhalb der ersten acht Stunden nach dem Ansetzen an die Pflanzen das Phloem fanden. Von diesen Blattläusen verblieben 18% in der gefundenen Siebröhre und saugten dort Phloemsaft, während von den restlichen Tieren weitere Phloemzellen angestochen wurden. Jedes Tier penetrierte vier Siebröhren während einer Messung, was eine signifikante Erhöhung (Mann-Whitney U Test: $p = 0,038$) gegenüber den von *U. tanaceti* angestochenen Phloemzellen darstellte (Abbildung 49b).

3.13.3 Relative Dauer der „stylet pathway activities“

Auf der Suche nach den Leitbahnen der Pflanzen durchqueren die Blattläuse mit ihren Stechborsten verschiedene Gewebetypen, wie zum Beispiel Epidermis, Parenchym- und Schwammgewebe. Deren elektrische Widerstände sowie die Potenziale, die durch das abwechselnde Vorschieben des Stilets und der Speichelabsonderung während der Bildung der Stiletscheide entstehen, führen zu verschiedenen Wellenlinientypen, die als „stylet pathway activities“ zusammengefasst werden. Der prozentuale Anteil dieser Suchphasen an der Gesamtdauer der Aktivitäten im Pflanzengewebe gab Auskunft darüber, wie schnell die gesuchten Zellen gefunden wurden. Ferner verlängerte sich diese Dauer, wenn die Tiere nach dem Finden der Leitgewebe ihr Stilet wieder zurückzogen und an anderer Stelle weitersuchten.

Die relative Dauer der „stylet pathway activities“, bezogen auf die Gesamtdauer der Such- und Saugaktivitäten (siehe Kapitel 3.13.1), lag bei *U. tanaceti* durchschnittlich bei 50% und bei *M. tanacetaria* bei 48%. Die Blattläuse beider Arten verbrachten demzufolge in etwa die gleiche Zeit mit dem Suchen geeigneter Phloem- oder Xylemgefäße. *U. tanaceti* unterschied dabei nicht zwischen Pflanzen verschiedener Stickstoffernährung. Die Tiere der Art *M. tanacetaria* hingegen verhielten sich auf unterschiedlich NH_4NO_3 -gedüngten Pflanzen nicht gleich. Hier konnten signifikante Unterschiede in der Dauer der Suchphasen zwischen den Pflanzen nachgewiesen werden (Kruskal Wallis Test: $p = 0,044$). Diese zeigten sich zwischen den Pflanzen der 1 mM und 12 mM NH_4NO_3 -Versorgung, da die Blattläuse innerhalb der Blätter der gering gedüngten Pflanzen signifikant länger suchten als innerhalb der Blätter der stark gedüngten Pflanzen (Abbildung 50).

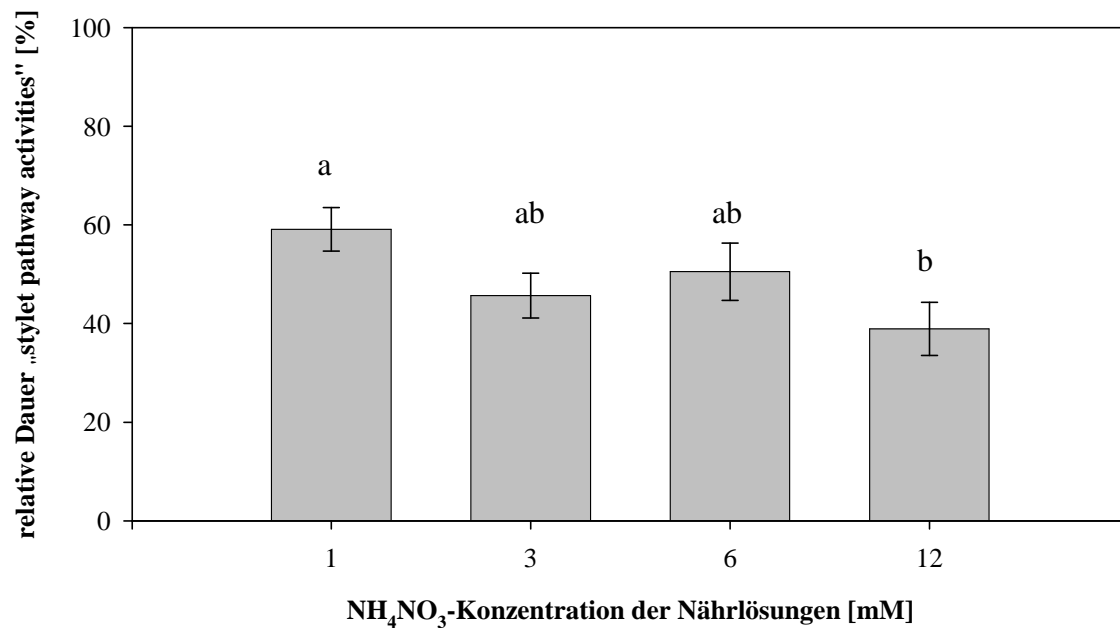


Abbildung 50: Relative Dauer der „stylet pathway activities“ der Blattlausart *M. tanacetaria* an unterschiedlich NH₄NO₃-gedüngten Rainfarnpflanzen. Signifikante Unterschiede bestehen zwischen den 1 mM und den 12 mM Pflanzen [Mann-Whitney U Test: $p = 0,007$]. Dargestellt sind Mittelwerte \pm Standardfehler.

3.13.4 Relative Dauer der Xylemsaftaufnahme

Blattläuse saugen nicht nur den Phloemsaft der Pflanzen, sondern sie nehmen auch Xylemsaft auf, um damit ihren Wasserbedarf zu decken. Innerhalb der achtstündigen Messdauer konnte bei 37% von *U. tanaceti* und bei 47% von *M. tanacetaria* die Aufnahme von Xylemsaft beobachtet werden. Die absolute Dauer dieser Phasen war individuell sehr verschieden und reichte bei beiden Arten von wenigen Minuten bis hin zu einigen Stunden. Die längste Dauer wurde bei einer Blattlaus der Art *M. tanacetaria* gemessen. Diese saugte durchgängig über eine Zeit von mehr als sieben Stunden am Xylemsaft. Unterschiede zwischen den Pflanzen konnten für *M. tanacetaria* nicht gezeigt werden. Hingegen saugten die Aphiden der Art *U. tanaceti* verschieden lang am Xylemsaft unterschiedlich Stickstoff versorgter Pflanzen (Abbildung 51). An den 1 mM Pflanzen wurde dabei signifikant mehr Zeit mit der Aufnahme von Xylemsaft verbracht als an den 6 und 12 mM Pflanzen (Mann-Whitney U Tests: 1/6 mM: $p = 0,015$; 1/12 mM: $p = 0,029$), wobei die Abweichungen an den 1 mM und 3 mM Pflanzen auffallend hoch waren. Das Verhalten der Tiere auf den 3 mM

Pflanzen nahm eine Mittelstellung ein und ließ sich nicht dem Verhalten der Tiere auf den anderen Pflanzen zuordnen.

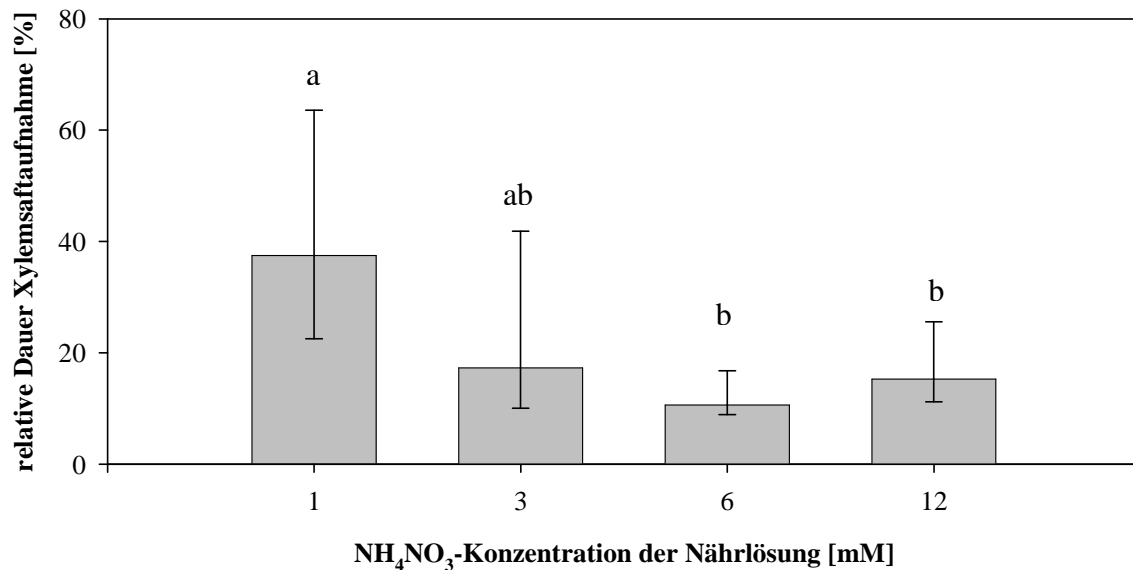


Abbildung 51: Relative Dauer der Xylemsaftaufnahme der Blattlausart *U. tanacetii* an unterschiedlich NH_4NO_3 -gedüngten Rainfarnpflanzen. Signifikante Unterschiede bestehen zwischen 1 und 6 mM [Mann-Whitney U Test: $p = 0,015$] bzw. 1 und 12 mM Pflanzen [Mann-Whitney U Test: $p = 0,029$]. Dargestellt sind Mediane \pm Quartile.

3.13.5 Relative Dauer der „derailed stylet mechanics“

Die Wellenform, welche als „derailed stylet mechanics“ bezeichnet wird konnte bei beiden Blattlausarten beobachtet werden. Obwohl deren Bedeutung noch nicht eindeutig verstanden ist, wird davon ausgegangen, dass Probleme mit dem mechanischen Vorschieben der Stechborsten innerhalb des Gewebes für diese elektrischen Signale verantwortlich sind. Vor und nach dem Auftreten dieser Wellenlinie wurden keine weiteren Auffälligkeiten beobachtet. Zeigten die Tiere diese besondere Problematik, dann war dies meist von längerer Dauer (durchschnittlich 40 - 55 min). Bei Blattläusen der Art *M. tanacetaria* kam es sogar vor, dass einzelne Tiere ($n = 6$) mehr als 50% der gesamten Messdauer ausschließlich diese Wellenlinie verursachten. Da in diesem Fall davon ausgegangen wurde, dass die Tiere kein „normales“ Such- und Saugverhalten zeigen konnten, wurden diese nicht für die Auswertung der Messungen verwendet. Unterschiede zwischen den Pflanzen konnten bei beiden Arten nicht gezeigt werden. Allerdings war die Häufigkeit des Auftretens der „derailed stylet mechanics“ zwischen den Arten verschieden. Bei *M. tanacetaria* wurden 45% der Tiere mit diesem Verhalten beobachtet, während bei 28% von *U. tanacetii* diese Wellenlinie auftrat.

3.13.6 Dauer bis zum ersten Phloemanstich

In den folgenden Kapiteln wird näher auf das Saugverhalten der Blattläuse am Phloem eingegangen. Dabei werden nur jene Blattläuse berücksichtigt, die während der achtstündigen Messdauer das Phloem gefunden haben (siehe Kapitel 3.13.2). Die Zeit, die dazu benötigt wurde, variierte individuell sehr stark. Es konnten sowohl Tiere beobachtet werden, die bereits nach sieben Minuten den ersten Phloemkontakt hatten, als auch Tiere, die erst nach sieben Stunden eine Siebröhre fanden. Die durchschnittliche Zeit, die zum Auffinden der Siebröhren benötigt wurde, lag allerdings bei drei Stunden. Unterschiede zwischen den Blattlausarten oder den verschieden ernährten Pflanzen gab es dabei nicht.

3.13.7 Relative Dauer der Aufnahme von Phloemsaft

Die relative Dauer der Saugaktivitäten am Phloemsaft variierte innerhalb der Art *U. tanacetii* sehr stark. Einige Tiere verblieben nur wenige Minuten im Phloem, während andere mehr als 90% der gesamten Aktivitätsphase mit der Nahrungsaufnahme beschäftigt waren. Hinzu kam, dass die Tiere Unterschiede zwischen den Pflanzen verschiedener Stickstoffdüngung machten (Abbildung 52).

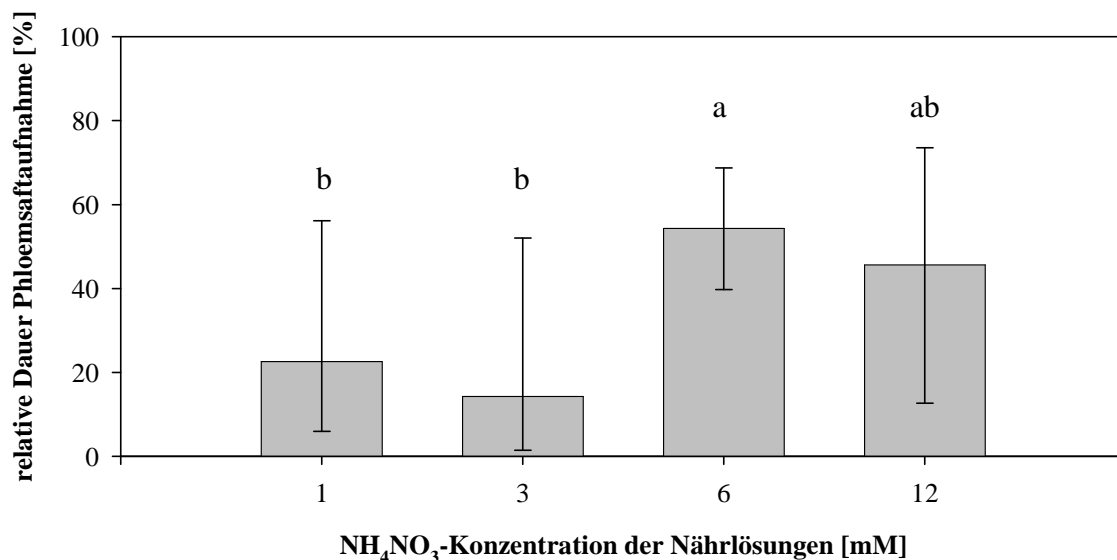


Abbildung 52: Relative Dauer der Phloemsaftaufnahme der Blattlausart *U. tanacetii* an unterschiedlich NH₄NO₃-gedüngten Rainfarnpflanzen. Signifikante Unterschiede bestehen zwischen 1 und 6 mM [Mann-Whitney U Test: $p = 0,011$] bzw. 3 und 6 mM Pflanzen [Mann-Whitney U Test: $p = 0,002$]. Dargestellt sind Mediane \pm Quartile.

Es konnte gezeigt werden, dass ein signifikanter Unterschied zwischen dem Saugverhalten von *U. tanacetii* an verschiedenen gedüngten Pflanzen bestand (Kruskal Wallis Test: $p = 0,007$), da die Tiere auf den 6 mM Pflanzen ca. 60% der gesamten Aktionszeit am Phloem saugten. An den 1 mM und 3 mM Pflanzen nahmen die beobachteten Aphiden jeweils nur ca. 15 - 20% der Gesamtzeit Phloemsaft auf (Mann-Whitney U Tests: 1/6 mM: $p = 0,011$; 3/6 mM: $p = 0,002$). Die Blattläuse auf den 12 mM Pflanzen zeigten starke Schwankungen und konnten deshalb keiner der beiden Gruppen zugeordnet werden.

Auch *M. tanacetaria* zeigte Unterschiede zwischen verschiedenen gedüngten Pflanzen (Kruskal Wallis Test: $p = 0,024$). Bei diesen Blattläusen unterschied sich das Saugverhalten der Tiere auf 1 mM Pflanzen von dem Saugverhalten der Aphiden auf den anderen Pflanzen, da diese Blattläuse für eine signifikant kürzere Zeit im Phloem verblieben (Abbildung 53).

Es wurde daher bei beiden Arten deutlich, dass der Phloemsaft der stärker NH_4NO_3 -gedüngten Pflanzen bei den Blattläusen zu einer Verlängerung der Saugphasen führte.

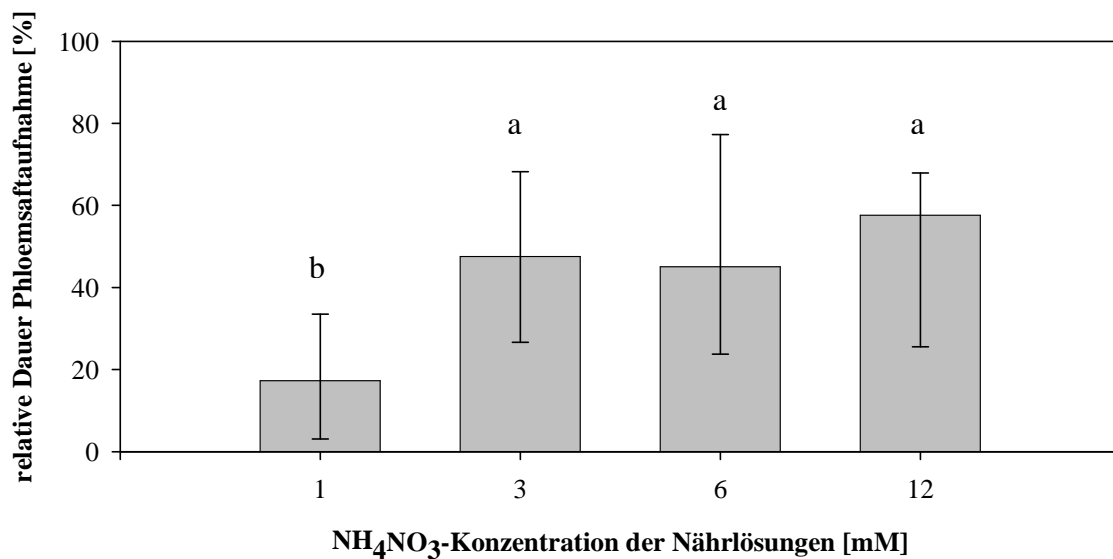


Abbildung 53: Relative Dauer der Phloemsaftaufnahme der Blattlausart *M. tanacetaria* an unterschiedlich NH_4NO_3 -gedüngten Rainfarnpflanzen. Signifikante Unterschiede bestehen zwischen 1 mM und 3/6/12 mM Pflanzen [Mann-Whitney U Tests: $p \leq 0,028$]. Dargestellt sind Mediane \pm Quartile.

3.13.8 Weitere Betrachtungsweisen zur Dauer der Phloemsaftaufnahme

Die absolute und relative Dauer der Phloemsaftaufnahme wurden für die Berechnung weiterer Faktoren herangezogen. So konnte beispielsweise berechnet werden, wie lange die einzelnen Saugphasen der Aphiden pro Siebröhre andauerten, indem man die absolute Verweildauer im Phloemgewebe durch die Anzahl der Siebröhrenanstiche dividierte. Dies gab Auskunft darüber, wie gut die Akzeptanz des Phloemsaftes war. Die Berechnung dieses Parameters ergab für beide Arten ähnlich signifikante Unterschiede, wie bereits in Kapitel 3.13.7 beschrieben. Auch hier zeigte sich, dass *U. tanacetii* die längsten Saugphasen auf den 6 mM Pflanzen aufwies (Abbildung 54). Diese dauerten über 60 Minuten (Median) pro Phloemkontakt an. Damit unterschieden sich die Tiere auf diesen Pflanzen signifikant von jenen auf 1 und 3 mM Pflanzen, bei denen der Median bei 10 Minuten lag (Mann-Whitney U Tests: 1/6 mM: $p < 0,001$; 3/6 mM: $p = 0,001$).

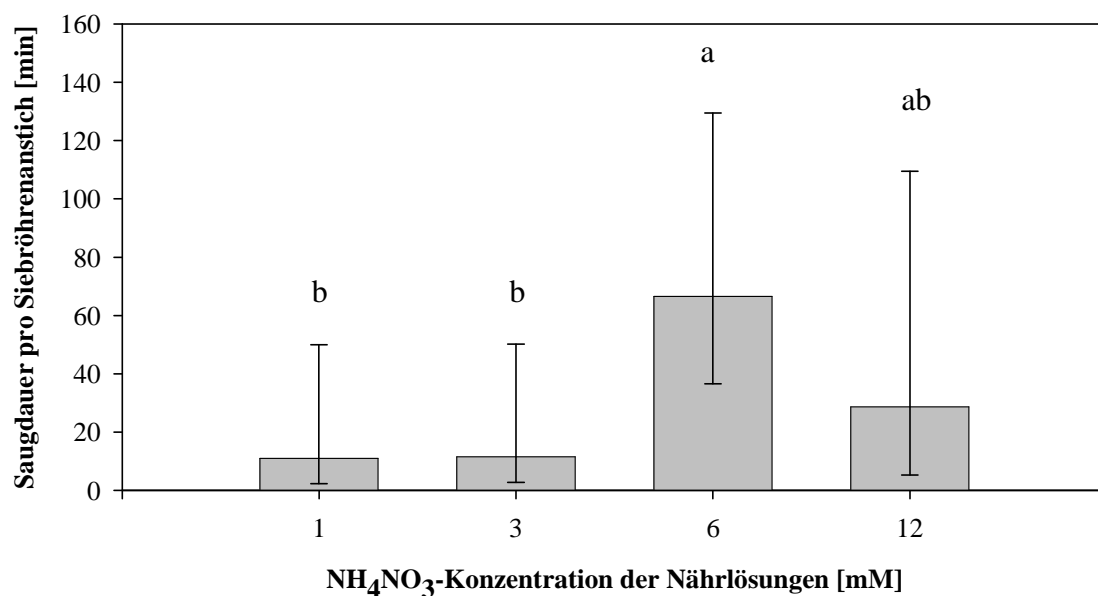


Abbildung 54: Saugdauer pro Siebröhrenanstich der Blattlausart *U. tanacetii* an unterschiedlich NH₄NO₃-gedüngten Rainfarnpflanzen. Signifikante Unterschiede bestehen zwischen 1 und 6 mM [Mann-Whitney U Test: $p < 0,001$] bzw. 3 und 6 mM Pflanzen [Mann-Whitney U Test: $p = 0,001$]. Dargestellt sind Mediane \pm Quartile.

Bei den *M. tanacetaria* war die Saugdauer pro Siebröhrenanstich nur bei den 1 mM Pflanzen signifikant niedriger gegenüber den anderen Versuchspflanzen (Mann-Whitney U Tests: $p \leq 0,026$). Die Saugdauer betrug hier weniger als 10 Minuten, während die Tiere an den anderen Pflanzen 40 - 60 Minuten pro Siebröhre saugten (Abbildung 55).

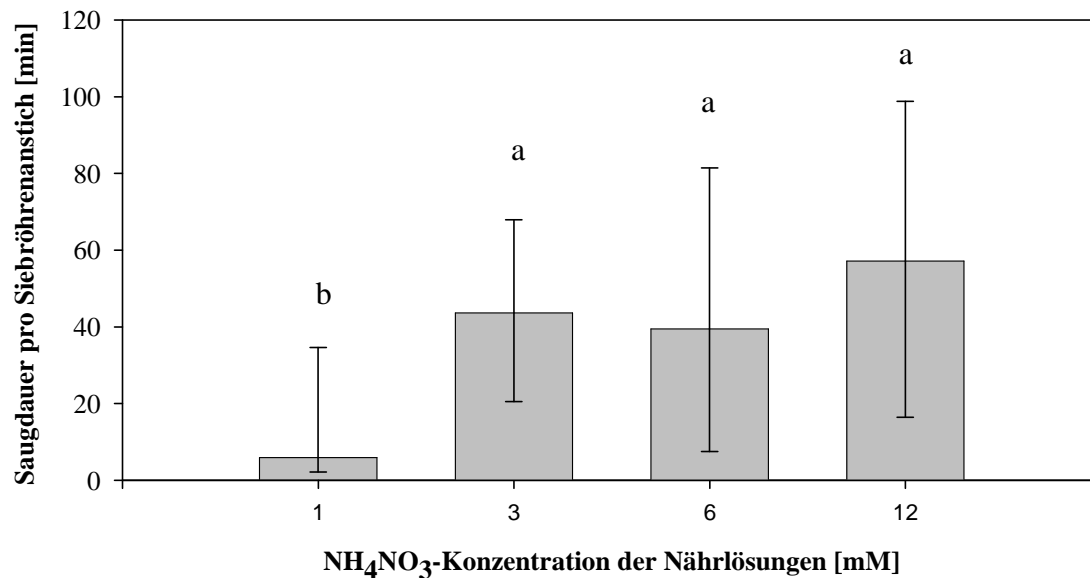


Abbildung 55: Saugdauer pro Siebröhrenanstich der Blattlausart *M. tanacetaria* an unterschiedlich NH₄NO₃-gedüngten Rainfarnpflanzen. Signifikante Unterschiede bestehen zwischen 1 mM und 3/6/12 mM [Mann-Whitney U Tests: $p \leq 0,026$]. Dargestellt sind Mediane \pm Quartile.

Um die Dauer der Phloemsaftaufnahme besser beschreiben zu können, ist es möglich verschiedene Korrekturen der Daten vorzunehmen (van Helden & Tjallingii, 2000). Dabei wird beispielsweise eine Korrektur der Messdauer um die Suchphase bis zum ersten Phloemanstich berechnet. Dies hat den Vorteil, dass die Dauer, die zum Finden der Siebröhren benötigt wurde, aus der Auswertung herausgenommen wird. Diese Korrektur berechnet sich nach folgender Formel:

$$\frac{\text{absolute Verweildauer im Phloemgewebe}}{(\text{Messdauer} - \text{Dauer bis zum ersten Siebröhrenanstich}) \cdot 100}$$

Nach der Korrekturberechnung lagen die Werte für die relative Saugdauer im Phloem bei *U. tanaceti* um ca. 10 - 15% und bei *M. tanacetaria* um ca. 10 - 40% höher als in den Abbildungen 52 und 53 dargestellt. Die Verteilung und die signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen blieben dabei jedoch unverändert. Allerdings wich die Verweildauer im Phloemgewebe von *M. tanacetaria* auf den 1 mM Pflanzen nach der Korrektur noch stärker von den anderen Gruppen ab, da diese sich um 10% erhöhte, während die anderen eine gleichmäßige Steigung um 30 - 40% erfuhren.

Eine weitere Möglichkeit der Korrektur besteht darin, die Dauer der „derailed stylet mechanics“ und die Phasen des Saugens von Xylemsaft nach folgender Berechnung von der Gesamtaktivitätsdauer abzuziehen (van Helden & Tjallingii, 2000):

$$\frac{\text{absolute Verweildauer im Phloemgewebe}}{(\text{Gesamtdauer Xylemsaftaufnahme} - \text{Gesamtdauer „derailed stylet mechanics“}) \cdot 100}$$

Durch diese Korrektur änderten sich nur die Werte der relativen Phloemsaftaufnahme bei den Aphiden der Art *M. tanacetaria*, da diese auf den 3, 6, und 12 mM NH_4NO_3 -gedüngten Pflanzen nach Abzug der anderen Verhaltensweisen 30 - 40% mehr Zeit mit der Aufnahme von Phloemsaft verbrachten. Dies entsprach einer relativen Dauer der Phloemsaftaufnahme von 50 - 60% der gesamten Aktivitätszeit im Gewebe. Bei den Blattläusen auf den 1 mM NH_4NO_3 -versorgten Pflanzen blieb die durchschnittliche Saugdauer hingegen bei 20%, weshalb auch die signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen erhalten blieben (Kruskal Wallis Test: $p = 0,028$; Post hoc: Mann-Whitney U Tests: $p \leq 0,019$). Die Werte von *U. tanacetii* wichen hingegen nur unwesentlich von denen in Kapitel 3.13.7 beschriebenen Medianen ab, da diese Tiere relativ seltene bzw. gleichmäßig verteilte Phasen der Xylemsaftaufnahme und der „derailed stylet mechanics“ zeigten.

3.13.9 Zusammenfassung der Verhaltensbeobachtungen der Blattläuse an unterschiedlich NH_4NO_3 -gedüngten Rainfarnpflanzen mittels EPG-Messungen

Die wichtigsten Parameter der EPG-Messungen sind in Tabelle 18 zusammengefasst. Dabei sind sowohl Unterschiede zwischen den Arten, als auch Unterschiede innerhalb der Arten zwischen den verschiedenen Nährlösungen aufgeführt.

Tabelle 18: Zusammenfassung ausgewählter Parameter des Such- und Saugverhaltens zweier Blattlausarten an unterschiedlich NH_4NO_3 -gedüngten Rainfarnpflanzen. Sofern nicht durch „gesamt“ gekennzeichnet, sind *Mediane* bzw. Mittelwerte angegeben.

Ausgewählte Parameter	<i>U. tanaceti</i>		<i>M. tanacetaria</i>		Unterschiede zwischen den Arten
	allgemein	Unterschiede zwischen den Nährlösungen	allgemein	Unterschiede zwischen den Nährlösungen	
Anzahl beobachteter Blattläuse (gesamt)	121	-	85	-	+
Aktionsdauer (gesamt)	604 h	-	488 h	-	-
Blattanstiche pro Messung	12	-	16	-	+
Zellanstiche pro Messung	178	-	139	-	-
Relative Dauer: „stylet pathway activities“	50%	-	48%	+	-
Anzahl Blattläuse mit „derailed stylet mechanics“ (gesamt)	28%	-	45%	-	+
Relative Dauer: „derailed stylet mechanics“	11%	-	22%	-	-
Blattläuse im Xylem (gesamt)	37%	+	47%	-	+
Relative Dauer: Xylemsaftaufnahme	17%	+	13%	-	-
Blattläuse im Phloem (gesamt)	77%	-	71%	-	-
Erster Phloemkontakt	3 h	-	3 h	-	-
Anzahl Siebröhrenanstiche	3	-	4	-	+
Relative Dauer: Phloemsaftaufnahme	38%	+	22%	+	-
mittlere Dauer: Phloemsaftaufnahme/Anstich	11 min	+	12 min	+	-
Absolute Dauer Phloem/ (Messdauer-Dauer bis zum 1. Phloemanstich)*100	46%	+	19%	+	+
Absolute Dauer Phloem/ (Dauer Xylemsaftaufnahme - Dauer „derailed stylet mechanics“)*100	40%	+	18%	+	+

3.14 Präferenzversuche mit Blattläusen der Arten *U. tanaceti* und *M. tanacetaria* an unterschiedlich NH_4NO_3 -gedüngten Pflanzen

Um zu testen, ob Pflanzen bestimmter NH_4NO_3 -Düngung von den Blattläusen präferiert werden, wurden Versuche durchgeführt, bei denen die Tiere zwischen Blättern unterschiedlich gedüngter Pflanzen frei wählen konnten. Nach 48 Stunden wurde die Anzahl der Blattläuse auf den Blättern ausgezählt. Dieser Versuch wurde mehrmals mit Blattläusen der Arten *U. tanaceti* und *M. tanacetaria* durchgeführt.

Insgesamt wurde die Verteilung von 497 *U. tanaceti* ausgezählt, wobei signifikante Unterschiede (χ^2 Test: $p < 0,001$; $\chi^2 = 39,62$; FG = 3) zwischen den Blättern verschiedener NH_4NO_3 -Düngung gezeigt wurden (Abbildung 56). Die meisten Blattläuse saßen nach 48 Stunden an den Blättern der 6 mM Pflanzen. Zugleich waren die Blätter der 12 mM Pflanzen bei den Blattläusen sehr beliebt. Zwischen beiden Gruppen existierten nach der Bonferroni-Korrektur keine signifikanten Unterschiede. Die Blattläuse auf den Blättern der 1 und 3 mM NH_4NO_3 -versorgten Pflanzen verteilten sich gleichmäßig, sodass zwischen diesen Gruppen keine signifikanten Unterschiede bestanden. Allerdings unterschied sich die Anzahl der Blattläuse auf den 1/3 mM Pflanzen sehr stark von den 6/12 mM Pflanzen (paarweise χ^2 Test: $p \leq 0,004$; $\chi^2 \leq 27,06$; FG = 1).

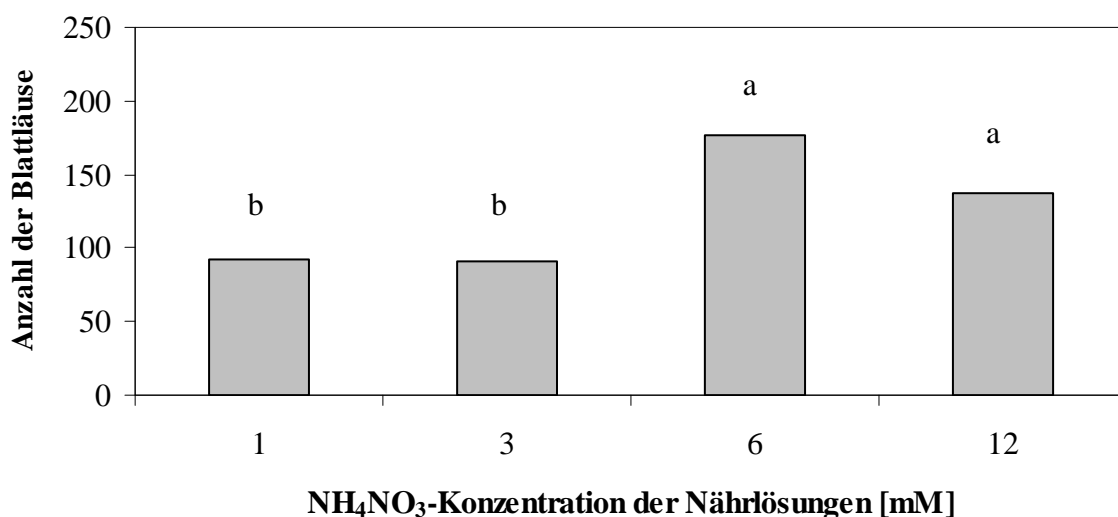


Abbildung 56: Verteilung der Blattläuse ($n = 497$) der Art *U. tanaceti* an Blättern unterschiedlich NH_4NO_3 -gedüngter Rainfarnpflanzen. Signifikante Unterschiede bestehen zwischen 1/3 mM und 6/12 mM [paarweise χ^2 Test: $p \leq 0,004$; $\chi^2 \leq 27,06$; FG = 1]. Dargestellt sind die Summen aus sechs unabhängigen Versuchsansätzen.

Bei *M. tanacetaria* wurden 606 Individuen auf deren Präferenz gegenüber Blättern bestimmter Stickstoffdüngung getestet (Abbildung 57). Auch bei diesen Versuchen zeigten sich signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen (χ^2 Test: $p < 0,001$; $\chi^2 = 18,55$; FG = 3), wobei in diesem Falle nur auf den Blättern der 1 mM NH_4NO_3 -gedüngten Pflanzen signifikant weniger Tiere saßen (paarweise χ^2 Test: $p \leq 0,005$; $\chi^2 \leq 32,39$; FG = 1). Die anderen Blätter wurden von den Tieren gleichmäßig besiedelt.

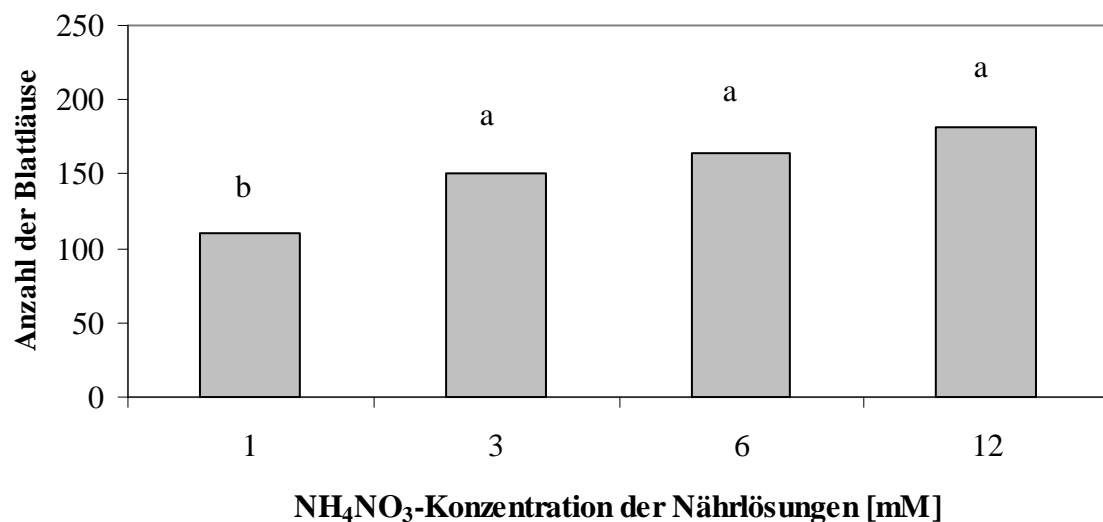


Abbildung 57: Verteilung der Blattläuse (n = 606) der Art *M. tanacetaria* an Blättern unterschiedlich NH_4NO_3 -gedüngter Rainfarnpflanzen. Signifikante Unterschiede bestehen zwischen 1 mM und 3/6/12 mM [paarweise χ^2 Test: $p \leq 0,005$; $\chi^2 \leq 32,39$; FG = 1]. Dargestellt sind die Summen aus sieben unabhängigen Versuchsansätzen.

Neben der Verteilung der adulten Blattläuse wurde auch die Anzahl der L1-Larven ausgezählt, die im Laufe der 48 Stunden auf den Blättern abgesetzt wurden. Die Reproduktionsraten der adulten Tiere ließen sich nun berechnen, indem die Anzahl der Jungtiere eines Blattes durch die Anzahl der Adulten auf diesem Blatt geteilt wurde. Es zeigte sich, dass *M. tanacetaria* im Allgemeinen mehr Jungtiere hervorbrachte als *U. tanaceti*. Zudem waren die Reproduktionsraten beider Arten auf den 6 und 12 mM Blättern gegenüber den anderen Blättern erhöht (Abbildung 58). Auf den 1 und 3 mM Pflanzen hingegen wurden von beiden Arten pro adulte Blattlaus etwa gleich viele Jungtiere geboren. Besonders viele L1-Larven brachten die Aphiden der Art *M. tanacetaria* auf den Blättern der 6 mM NH_4NO_3 -versorgten Pflanzen hervor, wo mehr als drei Jungtiere pro adulte Blattlaus geboren wurden.

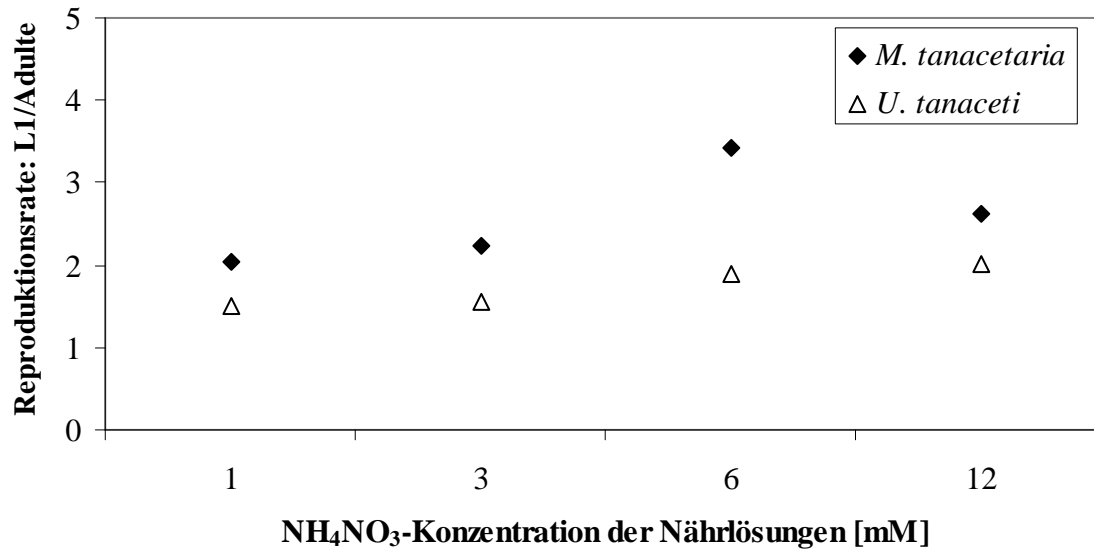


Abbildung 58: Reproduktionsraten (= Summe aller L1-Larven pro Blatt/Summe aller Adulten pro Blatt) der beiden Arten *U. tanaceti* und *M. tanacetaria* an Blättern unterschiedlich NH₄NO₃-gedüngter Rainfarnpflanzen.

3.15 Vergleich der Blattvergilbung bei Befall durch die Blattlausarten *U. tanaceti* und *M. tanacetaria*

Bereits an den Futterpflanzen der Blattlauszuchten wurden regelmäßig Beobachtungen gemacht, dass die Pflanzen der *U. tanaceti* stets schneller vergilbten und ausgetauscht werden mussten als die Futterpflanzen anderer Blattläuse. Um diese Beobachtung zu quantifizieren wurden Versuche durchgeführt, bei denen 100 adulte Blattläuse an frische Pflanzen angesetzt wurden und die Schädigung der Blätter im Verlauf von vier Wochen protokolliert wurde. Dabei zeigte sich deutlich, dass *U. tanaceti* eine sehr viel schnellere und stärkere Schädigung der Pflanzen auslöste als die Vergleichsart *M. tanacetaria* (Abbildung 59). Vier Wochen nach dem Ansetzen der Tiere waren die Blätter der mit *U. tanaceti* besiedelten Pflanzen zu 78 - 90% geschädigt, wobei die meisten davon vollständig vertrocknet waren (Abbildung 60). Die Blätter der Pflanzen, an denen *M. tanacetaria* saugte, waren dagegen nur zu durchschnittlich 32% geschädigt, wobei der Hauptanteil der Schädigung dieser Pflanzen (18%) auch durch Vertrocknen der Blätter sichtbar wurde. Der Unterschied zwischen dem Anteil geschädigter Blätter, ausgelöst durch die zwei verschiedenen Blattlausarten, war dabei höchst signifikant (Mann-Whitney U Test: $p < 0,001$).

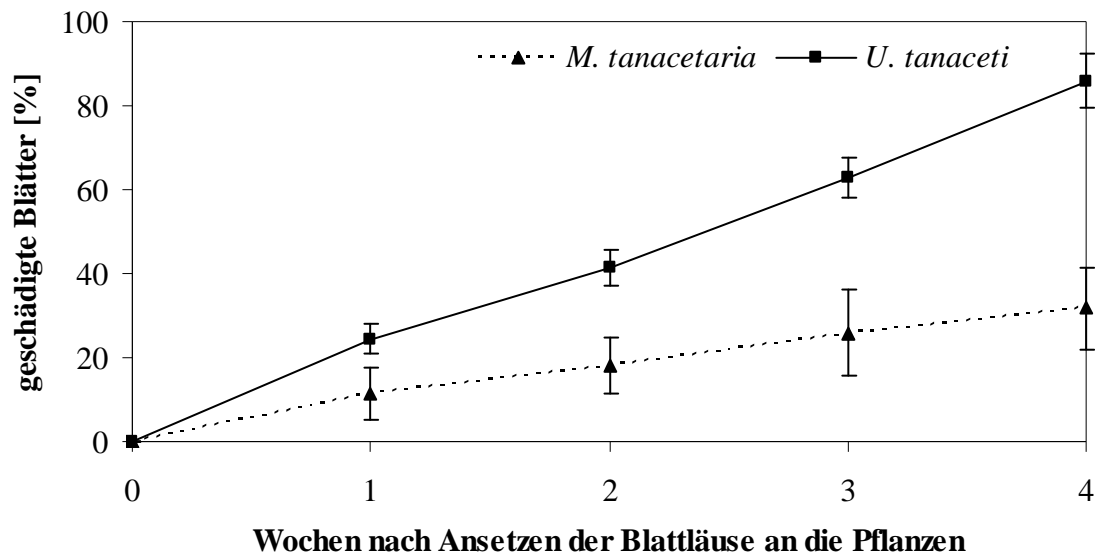


Abbildung 59: Prozentualer Anteil geschädigter Blätter im Zeitverlauf. Zum Zeitpunkt Null wurden alle vertrockneten Blätter der Pflanzen (n = 6) entfernt und jeweils 100 adulte Blattläuse der Arten *U. tanacetii* oder *M. tanacetaria* angesetzt. Dargestellt sind Mittelwerte \pm Standardabweichungen.



Abbildung 60: Vergleich der Pflanzen zu Beginn des Schädigungsversuches ohne Blattläuse (a/c) und nach vier Wochen Blattlausbefall (b/d). oben: Pflanze mit *U. tanacetii*-Befall; unten: Pflanze mit *M. tanacetaria*-Befall

4. Diskussion

4.1 Nachzucht der Rainfarnpflanzen mit verschiedenen Vermehrungsmethoden

Bei *Tanacetum vulgare* L. sind unterschiedliche Genotypen bekannt (Keskitalo et al., 1998). Da beachtliche Variationen im Aminosäuregehalt unterschiedlicher Genotypen auftreten können (Lohaus, 2000), war es für die Vergleichbarkeit der Daten von entscheidender Bedeutung, dass die verwendeten Versuchspflanzen genetisch identisch waren. Aus diesem Grund wurden alle Versuchspflanzen durch vegetative Vermehrung der Mutterpflanzen, welche ihrerseits aus Teilstücken eines Rhizoms hervorgegangen waren, gewonnen. Die dazu angewandten Methoden unterschieden sich in der benötigten Zeit und dem Erfolg. Bei der Stecklingsmethode, bei der die verwendeten Sprosse mindestens 2 - 3 voll entwickelte Blätter aufwiesen, hätten die Pflanzen theoretisch nach einer Bewurzelungsphase von 4 - 6 Wochen mit Nährlösung versorgt werden können und wären entsprechend schnell als Versuchspflanzen zum Einsatz gekommen. Allerdings war dies nur bei wenigen Pflanzen der Fall. Viele Sprosse benötigten eine längere Bewurzelungsphase, was zu Nährstoffmangel der Pflanzen führte, da diese im nährstoffarmen Vermiculit eingepflanzt waren und über Sprühnebel nur mit Wasser versorgt wurden. Deutliche Farbveränderungen sowie extremes Längenwachstum der Internodien und Notblütenbildung konnten vereinzelt beobachtet werden. Zudem kam es häufiger vor, dass einzelne Blätter und ganze Sprosse aufgrund der extremen Luftfeuchtigkeit im Benezelungsabteil faulten und abstarben. Da eine langfristige und zuverlässige Nachzucht über diese Methode nicht sichergestellt werden konnte, wurde hauptsächlich die zeitaufwändigere, aber erfolgreichere Rhizomvermehrung verwendet. Bei dieser Vermehrung dauerte es bis zu vier Monate, bis die Pflanzen eine ausreichende Größe und Blattanzahl aufwiesen, um verwendet werden zu können. Eine frühzeitige Planung der Versuche war daher notwendig und meist wurden neue Generationen schon angelegt, während die bereits bestehenden noch wuchsen. Jede Generation bestand aus einer Vielzahl von Pflanzen, und es war extrem wichtig, die Versuche und das Phloemsafthammeln an den Pflanzen zügig durchzuführen, da mit zunehmendem Alter der Pflanzen bzw. deren Aufenthaltsdauer im Gewächshaus die Wahrscheinlichkeit einer Infektion mit Krankheiten oder eines Befalles von Schädlingen anstieg. Es konnte dennoch nicht immer verhindert werden, dass Schädlinge, wie z. B. Weiße Fliege, Spinnmilben, Thripsen oder polyphage Blattläuse, die Pflanzen befielen. Eine räumliche Trennung der unterschiedlichen Generationen war daher stets erforderlich, um Krankheits-

oder Schädlingsübertragung zu verhindern. Ferner wurde die Nachzucht der Pflanzen über Samen der Mutterkultur getestet. Diese war ebenso erfolgreich, wurde aber aufgrund der möglichen genetischen Variabilität der Jungpflanzen nicht eingesetzt. Weiterhin wäre auch eine Selbstbestäubung der Pflanzen möglich gewesen. Da jedoch nach Lokki et al. (1973) nur 4% der Blüten nach Selbstbestäubung Samen produzieren, wurde diese Methode nicht getestet.

4.2 Stickstoffversorgung der Pflanzen im Gewächshaus und im Freiland

Es gibt keine Untersuchungen zum Nährstoffbedarf von Rainfarn. Daher wurden die Nährlösungen nach den Angaben von Keller (2002) zusammengestellt, welche bereits erfolgreich für die Anzucht von *Ricinus communis* L. verwendet wurden. Die Zusammensetzung der Nährstoffe und die unterschiedlichen NH_4NO_3 -Konzentrationen in den Nährlösungen erwiesen sich auch für das Wachstum der Rainfarnpflanzen im Gewächshaus als geeignet. Zeitweise konnten Unterschiede im Phänotyp (z. B. Sprosslänge, Anzahl/Größe der Blätter) und in der Wachstumsdauer der Pflanzen verschiedener Düngungsstufen beobachtet werden. Symptome von N-Mangel, wie z. B. grüngelbe bis rötliche Verfärbungen von Pflanzen oder Blattspitzen (Röber & Schaller, 1985) oder Starrtracht (Schilling, 2000), wurden jedoch nicht festgestellt. Ebenso konnten keine Symptome der N-Überdüngung, wie z. B. Geilwuchs und Ausprägung von schwammigem Gewebe, bzw. NH_3 -Vergiftung, wie z. B. Bildung von weißbraunen Blattrandnekrosen, beobachtet werden (Schilling, 2000). Mit Zunahme der N-Versorgung konnte jedoch eine Erhöhung der Wassergehalte der Sprosse (Abbildung 42) verzeichnet werden, wie es auch für *Ricinus* nachgewiesen wurde (Peuke et al., 1994).

Zur besseren Charakterisierung des Einflusses der Stickstoffkonzentrationen auf die o. g. Unterschiede im Phänotyp wurden die ober- und unterirdischen Biomassen, die Blattflächen und die C/N-Gehalte einiger Versuchspflanzen bestimmt. Es zeigte sich, dass die NH_4NO_3 -Konzentrationen einen großen Einfluss auf diese Faktoren hatten (siehe Kapitel 3.11). Für verschiedene Pflanzenarten konnte bereits gezeigt werden, dass der Anstieg der Stickstoffversorgung zu einem Zuwachs an oberirdischer Biomasse (Caputo & Barneix, 1997; Keller, 2002; Chenard et al., 2005; Kopsell, 2007a; Wassner & Ravetta, 2007) und Blattfläche (Maroco, 2002; Zhang et al., 2006) führt. Dieser Zuwachs konnte auch für Rainfarn nachgewiesen werden. Die Zunahme des Sprosswachstums hatte außerdem einen Einfluss auf das Wurzel/Spross-Verhältnis der Pflanzen. Zwar wächst bei besserer Nährstoffversorgung

sowohl der Spross als auch die Wurzel, doch äußert sich eine hohe Stickstoffversorgung durch ein stärkeres Wachstum des Sprosses relativ zur Wurzel (Peuke et al., 1994; Marschner, 1995). Dies führt dazu, dass das Wurzel/Spross-Verhältnis mit steigender N-Versorgung abnimmt, wie es für verschiedene Pflanzen (Rufty et al., 1990; Sattelmacher et al., 1990; Duarte & Larsson, 1993; Fetene et al. 1993; Maroco, 2002) sowie in der vorliegenden Arbeit für *T. vulgare* gezeigt werden konnte. Das Wurzeltrockengewicht war bei den Rainfarnpflanzen der unterschiedlichen Versuchsansätze verhältnismäßig konstant. Dies ist eher ungewöhnlich, da die Stickstoffversorgung im Grunde einen Einfluss auf die Wurzelbiomasse hat (Kopsell, 2007b). Bei ausreichender N-Verfügbarkeit entwickeln Pflanzen kurze, kräftige Wurzeln (Tingey et al., 1996; Frey & Lösch, 2004), wohingegen bei N-Mangel eher feine lange, weniger stark verzweigte Wurzeln ausgebildet werden (Wiersum, 1958; Peuke et al., 1994; Schilling, 2000). Es ist daher durchaus denkbar, dass diese Unterschiede bei der Bestimmung des Frisch- und Trockengewichtes der Wurzeln nicht zum Tragen kamen. Um den Effekt der Stickstoffdüngung auf die Wurzeln genauer charakterisieren zu können, hätten Wurzellänge, Wurzeloberfläche und Anzahl der Wurzelhaare bestimmt werden müssen (Marschner, 1995; Gilroy & Jones, 2000).

Einen weiteren Einfluss hatte die NH_4NO_3 -Versorgung auf die prozentualen Anteile von Stickstoff (%N) im Blattgewebe, welcher mit ansteigender N-Versorgung zunahm. Die gemessenen Werte der Gewächshauspflanzen von 1,8 - 7,4% lagen etwas höher als erwartet. Diejenigen der Freilandpflanzen, welche im Bereich von 1,7 - 4,1% angesiedelt waren, entsprachen hingegen den Ergebnissen von Untersuchungen, die an *Ricinus*, Petersilie und Wasserkresse durchgeführt wurden (Peuke et al., 1994; Chenard et al., 2005; Kopsell et al., 2007b). Wenn im Bodenwasser bzw. in den Nährlösungen mehr Stickstoff gelöst ist, können von den Pflanzen mehr N-haltige Produkte (Aminosäuren, Proteine u. a.) gebildet werden, weshalb sich der %N-Anteil in den Blättern erhöht. Die N-Versorgung sollte auf den Kohlenstoffanteil (%C) im Blattgewebe keinen direkten Einfluss haben (Kopsell, 2007b). Bei Rainfarn wurde dagegen eine sehr geringe Abnahme des %C-Gehaltes gemessen, die mit der %N-Zunahme korrelierte. Da die Kohlenstoff- und Stickstoffgehalte bei den Proben gemeinsam bestimmt wurden, kann dieser Effekt auch rechnerisch bedingt gewesen sein, da die prozentuale Zunahme eines Stoffes mit der prozentualen Abnahme eines anderen einhergeht.

Aus den Anteilen von %C und %N konnte das C/N-Verhältnis der Blattproben von den Pflanzen unterschiedlicher N-Düngung berechnet werden. Dieses zeigte eine lineare Abnahme mit Zunahme der NH_4NO_3 -Versorgung, was sich daraus ergab, dass der Gehalt von

%N verhältnismäßig stark anstieg, während der Anteil von %C nur sehr gering abnahm. Ähnliche Ergebnisse wurden auch bei Analysen von jungen Eichen erzielt, welche unter ansteigender N-Konzentration wuchsen (Thomas & Ahlers, 1999).

Das C/N-Verhältnis konnte auch verwendet werden, um den Ernährungszustand der im Freiland gewachsenen Pflanzen zu charakterisieren. Diese Pflanzen unterlagen den natürlichen Gegebenheiten ihrer Standorte und zeigten ein normales Wachstum ohne Symptome für Nährstoffmangel oder Stickstoffüberschuss. Die Ergebnisse der %C- und %N-Bestimmung der Blätter zeigten, dass diese Pflanzen unter vergleichbaren N-Bedingungen wuchsen, wie jene Versuchspflanzen im Gewächshaus, die mit 1 mM NH_4NO_3 -Nährlösung angezogen wurden. Ein weiterer Beleg dafür war das Ergebnis der Bodenuntersuchungen an diesen Standorten. Es wurden die Nitrat- und Ammoniumkonzentrationen von Bodenproben bestimmt, welche in unmittelbarer Nähe der Pflanzenbestände gezogen wurden. Die NH_4 -Konzentrationen in den Bodenproben zeigten sowohl zwischen den Monaten als auch zwischen den verschiedenen Tiefenschichten einzelner Monate signifikante Unterschiede. Dennoch lagen alle analysierten NH_4 -Konzentrationen im Bereich zwischen 1 und 4 mM. Durch die Extraktion der Bodenproben mit KCl bestand allerdings die Gefahr, dass die Konzentrationen überschätzt wurden, da bei dieser Methode auch sorbierte Ionen in Lösung gehen und gemessen werden. Daher kann davon ausgegangen werden, dass es sich bei den Ammoniummengen um Höchstwerte handelt und die Konzentration der freien, pflanzenverfügbaren Ionen im Boden niedriger war. Dies wird auch durch die Ergebnisse der Untersuchung des Ammoniumgehaltes in Bodenlösungen von Ackerböden unterstützt, welche eine durchschnittliche NH_4 -Konzentration von 0,048 mM ergaben (Peters, 1990; Marschner 1995). Während Ammonium im Boden hauptsächlich in gebundener Form vorkommt, ist Nitrat im Bodenwasser gelöst. Aus diesem Grund ist dessen Konzentration sehr variabel und witterungsabhängig. Durch häufige oder starke Niederschläge, wie sie in der zweiten Maihälfte und Anfang Juni 2006 auftraten (Abbildung 61), können die Nitrationen innerhalb kürzester Zeit in tiefer gelegene Bodenschichten geschwemmt werden (Madigan et al., 2000), was die relativ niedrigen Konzentrationen in den Bodenproben dieser Monate (Probennahme: 31.05.06 und 31.07.06) erklären könnte. Die klimatischen Bedingungen spielen zudem eine entscheidende Rolle bei der Nachlieferung von Nitrat, da dieses aus Umsetzungsprozessen der Bodenbakterien entsteht. Der Wechsel von einer feuchten Phase auf eine trockene Phase, welcher im Mai/Juni 2006 stattfand, erhöht die Mineralisierung von Nitrat im Boden (Scheffer & Schachtschabel, 1992). Eine so entstandene Nitratakkumulation war vermutlich der Grund für die hohen Konzentrationen der Juniprobe (Probennahme: 29.06.06). Der

Regen, der ein paar Tage vor und während der Probennahme fiel, hatte entweder noch keine starke Verlagerung verursacht oder die NO_3 -Konzentrationen waren vor den Niederschlägen noch höher. Da der Nitratgehalt im Boden sehr veränderlich ist und nur geringe Stichprobengrößen erfasst wurden, sind die gemessenen Konzentrationen ($< 6 \text{ mM}$) nur als Richtwerte zu verstehen. Dennoch entsprechen diese Konzentrationen Ergebnissen anderer Untersuchungen, bei denen eine durchschnittliche NO_3 -Konzentration von $3,1 \text{ mM}$ gemessen wurde (Peters, 1990; Marschner 1995). In erster Linie sollte ein Vergleich der Stickstoffkonzentrationen der Nährlösungen mit möglichen Stickstoffbedingungen im Freiland aufgestellt werden, um abzuschätzen, ob die Konzentrationen in den verwendeten Nährlösungen realistisch waren. Es konnte sowohl durch die %C- und %N-Gehalte im Blattgewebe als auch durch die Bodenuntersuchungen gezeigt werden, dass die für die Anzucht der Versuchspflanzen im Gewächshaus verwendeten Stickstoffkonzentrationen durchaus den Bedingungen im Freiland entsprachen. Die Nährlösungen mit den 6 und 12 mM NH_4NO_3 -Konzentrationen stellten den Pflanzen sogar mehr Stickstoff zur Verfügung als an deren natürlichen Standorten vorgefunden wurde. Rainfarn wird als mäßiger Stickstoffzeiger eingestuft (Ellenberg, 1979), was nach den vorliegenden Untersuchungen 1 - 3 mM NH_4NO_3 im Bodenwasser entsprechen würde. Aufgrund der möglichen Überschätzung der NH_4 -Konzentration und der zum Teil sehr stark schwankenden NO_3 -Konzentrationen in den Bodenproben kann davon ausgegangen werden, dass Rainfarn vermutlich auch mit geringeren Stickstoffmengen wachsen könnte.

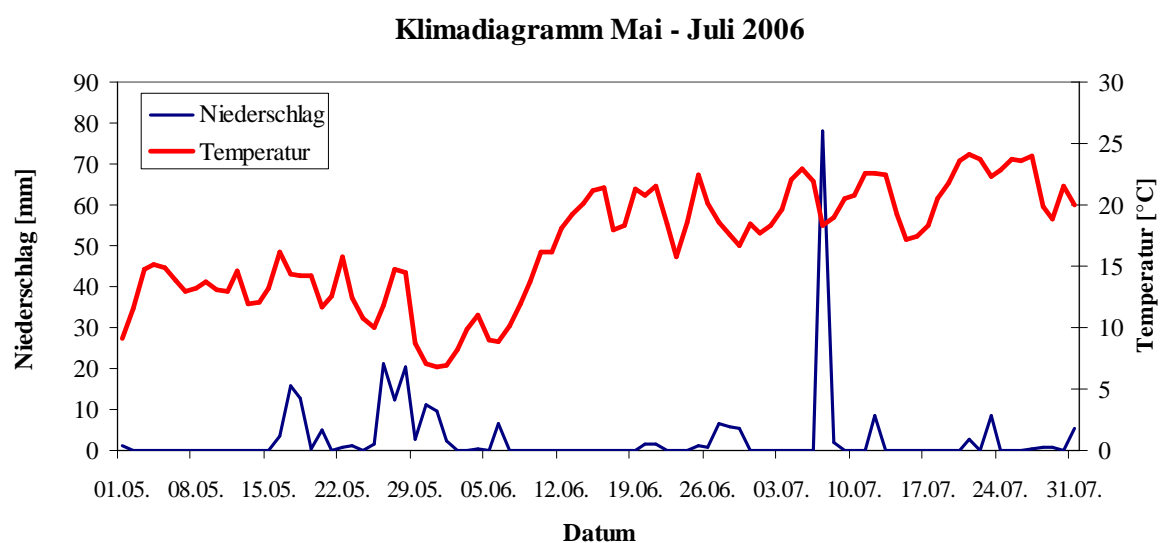


Abbildung 61: Niederschlagsmengen und Tagesdurchschnittstemperaturen von Mai bis Juli 2006, erstellt aus den Messwerten der Wetterstation des Ökologisch Botanischen Gartens Bayreuth. Daten zur Verfügung gestellt vom BayCEER.

4.3 Eignung von Rainfarn und der daran saugenden Blattlausarten für die Stylektomie sowie Geschwindigkeit, Dauer und Ausbeute stattfindender Exsudationen

An *T. vulgare* sind 51 Pflanzensaftsauger bekannt (Schmitz, 1998) - davon eine Reihe von Blattlausarten, von denen neun im Verlauf dieser Arbeit an der Stylektomie getestet wurden. Morphologische Gegebenheiten, wie zum Beispiel Größe der Tiere, Einstichwinkel der Mundwerkzeuge in das Blattgewebe, aber auch das Verhalten der Blattläuse bei Erschütterungen oder Stress, begründeten maßgeblich den Stylektomieerfolg. Mit den meisten an *T. vulgare* getesteten Aphiden konnte die Stylektomie erfolgreich durchgeführt werden. Dennoch wurden zum Sammeln von Phloemsaft nur Blattläuse der Arten *Uroleucon tanacetii* und *Macrosiphoniella tanacetaria* verwendet, da diese unterschiedliche Schädigungseffekte an den befallenen Pflanzen verursachten (siehe Kapitel 3.15) und ebenso für EPG-Messungen geeignet waren.

Es ist bekannt, dass der Stylektomieerfolg und die Phloemsaftausbeute von dem verwendeten Pflanzen-Insekt-System abhängig sind, wobei die verwendete Pflanzenart den Haupteinfluss auf Erfolg und Ausbeute hat. Mit monocotylen Pflanzen, wie z. B. Hafer (Weibull, 1987; Kuo-Sell, 1989), Weizen (Fisher & MacNicol, 1986; Hayashi & Chino, 1986), Gerste (Weibull, 1987; Winter et al., 1992), Mais (Oshima et al., 1990; Weiner et al., 1991) und Reis (Fukumorita & Chino, 1982), wurden bereits sehr gute Erfahrungen gemacht, während Phloemsaft von Spinat und verschiedenen Leguminosen nur in sehr geringen Mengen gesammelt werden konnte (Fisher & Frame, 1984; Winter et al., 1992). Der Einfluss der Blattlausarten auf den Stylektomieerfolg soll nach Fisher & Frame (1984) hingegen gering sein, da Versuche mit drei Aphidenarten an Weizen und Gerste keine Unterschiede in der Anzahl der erfolgreichen Stilettamputationen und der Exsudationsdauer ergaben. Van Helden et al. (1994) machte bei der Verwendung zweier Aphidenarten (*Nasonovia ribisnigri* und *Myzus persicae*) an Kopfsalat allerdings andere Erfahrungen. Die Dauer der Exsudationen sowie die Phloemsaftausbeute fielen bei diesen beiden Blattlausarten unterschiedlich aus. Dies konnte ebenfalls bei den zum Sammeln von Phloemsaft an Rainfarn verwendeten Blattlausarten *U. tanacetii* und *M. tanacetaria* beobachtet werden. Zwar führten bei beiden Arten 74 bzw. 75% der abgegebenen Radiofrequenz-Impulse zur Amputation der Stilette, aber nur 15 bzw. 23% (*M. tanacetaria* bzw. *U. tanacetii*) der abgetrennten Stechborsten brachten Exsudationen mit einem Volumen größer als 3 nl hervor. Diese Exsudationserfolge lagen im mittleren Bereich von Untersuchungen anderer Autoren (Fisher & Frame, 1984; Hayashi & Chino, 1986; Rahbé et al., 1990; Girousse et al., 1991; Winter et

al., 1992; Gironse & Bournoville, 1994). Durch Kombination von Stylektomie mit EPG-Messungen konnte Mentink et al. (1984) die Exsudationserfolge sogar auf über 70% erhöhen, wenn ausschließlich während Wellenlinie E (Phloem) geschnitten wurde. Für die Anzahl erfolgreich durchtrennter Stilette machte es keinen Unterschied welche Blattlausart verwendet wurde. Es war jedoch auffällig, dass fast doppelt so viele Exsudationen nach wenigen Sekunden oder Minuten abbrachen, wenn Blattläuse der Art *M. tanacetaria* an Stelle von *U. tanacetii* für die Stylektomie verwendet wurden. Entsprechende Ergebnisse wurden auch bei den Blattlausarten *N. ribisnigri* und *M. persicae* an Kopfsalat erzielt (Van Helden et al., 1994). Allerdings zeigten diese Aphiden Präferenzen für unterschiedliche Saugorte (große Blattadern oder Lamina), welche bei den in dieser Arbeit verwendeten Blattläusen nicht beobachtet werden konnten. Obwohl beiden Arten hauptsächlich die Stechborsten durchtrennt wurden, während diese an den Mittelrippen saßen, kann nicht ausgeschlossen werden, dass *M. tanacetaria* innerhalb des Pflanzengewebes häufiger an Leitbahnen geringeren Durchmessers saugte. Möglicherweise verstopften diese schneller, wenn die Wirkung der Antikoagulanzen des Blattlausspeichels nachließ. Artspezifische Unterschiede in der Zusammensetzung oder Effizienz des Speichels war hingegen unwahrscheinlich, da auch bei der Stylektomie mit *M. tanacetaria* lang anhaltende Exsudationen (mehrere Stunden bis Tage) auftraten. Vielmehr liegt der Schluss nahe, dass die Pflanzen individuelle Unterschiede in den Exsudationsraten verursachten. Saisonale und tagesrhythmische Schwankungen der Exsudationsraten sowie Abhängigkeiten von der Wachstumsgeschwindigkeit und dem Alter der Pflanzen sind bekannt (Fisher & Frame, 1984; Winter et al., 1992). Die erwähnten saisonalen Schwankungen konnten von Winter et al. (1992) beobachtet werden, obwohl die Pflanzen unter standardisierten Bedingungen in Wachstumskammern angezogen wurden, was den Bedingungen im Klimaabteil der Rainfarnzucht entsprach. Da die Verwendung der Rainfarnpflanzen für die Stylektomie zu unterschiedlichen Zeitpunkten erfolgte, können saisonal bedingte Unterschiede nicht ausgeschlossen werden. Diese sind jedoch relativ unwahrscheinlich, da schnell stoppende Exsudationen nur bei einzelnen Pflanzen innerhalb der Pflanzengenerationen auftraten. Auch die Blattläuse selbst oder andere herbivore Insekten könnten einen negativen Einfluss auf Stylektomieerfolg und Phloemsaftausbeute gehabt haben. Es sind Pflanzenabwehrreaktionen bekannt, die durch das Einstechen der Stilette in das Pflanzengewebe ausgelöst werden (Thomson & Goggin, 2006; Klingler et al., 2007). Auch Pathogene wie der Echte Mehltau vermögen die Erfolgsrate der Stylektomie und die Phloemsaftausbeute zu verringern (Gaupels et al., 2008). Möglicherweise lösten die an *T. vulgare* zeitweise beobachteten Schädlinge ähnliche Abwehrreaktionen und die Verstopfung

von Siebröhren aus. Eine schlüssige Erklärung für das Phänomen der häufigen Exsudationsabbrüche nach erfolgreichen Stilettamputationen bei *M. tanacetaria* wurde letztlich nicht gefunden. Allerdings konnte bei den EPG-Messungen gezeigt werden, dass *M. tanacetaria* häufiger neue Siebröhren anstach als *U. tanaceti*, was möglicherweise aufgrund einer stattfindenden Pflanzenreaktion geschah. Da am Anfang jeder Phloemsaugperiode (E1) Speichel in die Siebröhre abgegeben wird (Prado & Tjallingii, 1994), besteht bei *M. tanacetaria* zusätzlich eine höhere Wahrscheinlichkeit, dass den Tieren während dieser Phase die Stilette durchtrennt wurden. Dies führte möglicherweise dazu, dass Phloemsaft aus dem Stilettstumpf austrat, die Exsudation allerdings aufgrund des Wundverschlusses der Pflanzen sehr schnell stoppte. Damit könnten die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung erklärt werden. Weitere Beobachtungen der Blattläuse in Kombination mit EPG-Messungen, die unter anderem die Phasen der Speichelabgabe in die Siebröhre dokumentieren, histologische Schnitte und Untersuchungen des Blattlausspeichels wären zur Klärung dieser Problematik nötig.

Aus welchem Grund viele Exsudationen bereits nach wenigen Sekunden stoppen ist nicht klar. Ein plötzlicher Druckabfall in den Siebröhren nach dem Durchtrennen der Stilette (Peel, 1975) oder elektrische Entladungen bzw. der Hitzeimpuls während der Stylektomie (van Helden et al., 1994) werden diskutiert. Tjallingii & Hogen Esch (1993) berichteten von Verstopfungen der Stilette mit Strukturen ähnlich dem P-Protein der Pflanzen. Diese könnten auch für den sukzessiven Abbruch von lang anhaltenden Exsudationen verantwortlich sein, da diese gewöhnlich erst langsamer werden, bevor die Exsudation vollständig zum Erliegen kommt (Fisher & Frame, 1984; van Helden et al., 1994). Auch bei *T. vulgare* konnte meist eine Abnahme der Geschwindigkeit vor dem Abbruch der Exsudationen beobachtet werden. Die Exsudationsgeschwindigkeiten variierten individuell häufig sehr stark. Die durchschnittlichen Werte lagen zwischen 6 und 34 nl/h, doch wurden auch höhere Werte gemessen. Der ermittelte Höchstwert von 146 nl/h war vergleichbar mit anderen Krautgewächsen (van Dehn, 1961). Autoren, die Phloemsaft sowohl von Kraut-, als auch von Holzgewächsen sammelten, berichteten dagegen von Geschwindigkeiten zwischen 324 und mehr als 3600 nl/h (Mittler, 1957a; Peel, 1975; Rahbé et al., 1990; Tjallingii, 1994; van Helden et al., 1994; Gaupels et al., 2008). Bei Holzgewächsen werden fast immer höhere Exsudationsraten als bei Krautgewächsen erzielt, was durch den höheren Turgor und eine niedrigere Viskosität des Phloemsaftes ermöglicht wird (Van Dehn, 1961). Weiterhin sollen Durchmesser und Länge der Stilette der verwendeten Blattlausarten und individuelle Merkmale der Pflanzen (z. B. Genotyp) einen Einfluss auf die Exsudationsgeschwindigkeiten

haben (Fisher & Frame, 1984; Girousse & Bournoville, 1994). Winter et al. (1992) berichtete allerdings von ähnlichen Exsudationsgeschwindigkeiten (20 - 50 nl/h) bei Gerste und von einer kontinuierlichen Exsudation von bis zu sechs Tagen. Fisher & Frame (1984) und van Helden et al. (1994) erhielten an verschiedenen Pflanzenarten vereinzelt Stilette, welche über drei Tage anhaltend exsudierten. Mittler (1953) berichtete von vier Tagen durchgängiger Exsudation an *Salix*, und von Dehn (1961) beschrieb sogar eine 11tägige, gleichmäßig starke Exsudation eines Stilettts bei *Campanula*. Dies widerspricht der häufig vertretenen Ansicht, dass Stylektomie aufgrund kurzer Exsudationen und geringer Phloemsaftausbeute für Dicotyledonen ungeeignet ist (Gaupels et al., 2008). Auch bei *T. vulgare* konnten regelmäßig lang anhaltende Exsudationen (> 1 Tag) dokumentiert werden. Da nach zwei bis vier Tagen durchgängigen Phloemsaftflusses genug Material für die Analysen gesammelt werden konnte, wurden diese Pflanzen meist nicht weiter beprobt. Häufig war die Exsudationsgeschwindigkeit am Ende der Sammelphase allerdings noch so hoch, dass diese Stilette vermutlich noch einige Tage weiter exsudiert hätten. An einer Pflanze wurde hingegen die maximale Exsudationsdauer eines Stilettts getestet. Diese Pflanze exsudierte kontinuierlich über 31 Tage hinweg mit einer anfangs relativ hohen Exsudationsgeschwindigkeit von 65 nl/h in der ersten Woche. Diese nahm in den Wochen zwei bis vier auf 38 - 48 nl/h ab und kam in der fünften Woche vollständig zum Erliegen. Exsudationen von vergleichbarer Dauer sind in der Literatur bisher nicht erwähnt.

4.4 Einfluss des Stickstoffangebotes auf die Konzentration und Zusammensetzung der Aminosäuren im Phloemsaft

4.4.1 Aminosäure- und Saccharosekonzentrationen im Phloemsaft

Die Gesamtkonzentration der Aminosäuren im Phloemsaft von *T. vulgare* korrelierte positiv mit den für die Pflanzenanzucht verwendeten NH_4NO_3 -Konzentrationen und lag durchschnittlich bei 91 - 655 mM. In der Literatur fanden sich vornehmlich Angaben von niedrigeren Aminosäurekonzentrationen zwischen 60 - 200 mM (Fukumurita & Chino, 1982; Riens et al., 1991; Lohaus et al., 1995, 1998; Winzer et al., 1996; Sandstöm & Moran, 2001; Bernays & Klein, 2002; Wilkinson & Douglas, 2003). Demgegenüber berichteten Winter et al. (1992) von Konzentrationen bis 340 mM und Lohaus & Moellers (2000) sogar von Werten zwischen 204 - 497 mM, welche mit den in dieser Arbeit gemessenen vergleichbar waren.

Die Konzentration der Aminosäuren im Phloemsaft wird von der Regulation verschiedener Prozesse des Stickstoffmetabolismus und der NO_3 -Aufnahme beeinflusst (Touraine et al., 1994; Barneix & Causin, 1996; Caputo & Barneix, 1997), was auch bei Rainfarn deutlich wurde, da der Anstieg der Aminosäurekonzentrationen mit der Zunahme der Stickstoffversorgung einherging.

Die N-Konzentrationen der Nährlösungen hatten dagegen keinen Einfluss auf die Saccharosekonzentrationen der Phloemsaftproben. Bei der Bearbeitung einer ähnlichen Fragestellung an Weizen erzielten Caputo & Barneix (1997) vergleichbare Ergebnisse. Die Bestimmung der Saccharosekonzentration ergab Werte zwischen 0,8 - 1,8 M, welche mit denen in der Literatur angegebenen Konzentrationen vergleichbar waren (Riens et al., 1991; Winter et al., 1992; Woodring et al., 2004, 2006; Douglas, 2006). Dabei zeigte sich jedoch, dass die Saccharosekonzentrationen stark von den Bedingungen und der Dauer des Phloemsaftsammelns beeinflusst wurden. Durch Verdunstungsversuche (siehe Kapitel 3.10) konnte die Evaporation an künstlichem Phloemsaft deutlich gemacht werden, welche vermutlich zur Überschätzung sowohl der Saccharose- als auch der Aminosäurekonzentration der Proben geführt haben könnte (Downing & Unwin, 1977; Fisher & Cash-Clarke, 2000). Entscheidende Faktoren für das Ausmaß der Evaporation waren die Ausgangskonzentrationen der Saccharose im künstlichen Phloemsaft und die Luftfeuchtigkeit während des Sammelns. Weiterhin wurde die Verdunstung von der Füllmenge der Kapillare und der Anzahl der luftzugänglichen Oberflächen beeinflusst (Susanne Bauer, persönliche Mitteilung). Ob die Evaporation auf beide Endigungen der Kapillare einwirkte, wurde dabei von der Nähe der Kapillarspitze zur Blattoberfläche bestimmt. Die Kapillaren wurden während des Phloemsaftsammelns immer möglichst dicht an die Blattoberfläche herangeführt, um die Verdunstungseffekte auf eine Kapillaröffnung zu beschränken. Dennoch kann das Ausmaß der Evaporation nur abgeschätzt werden. Da gezeigt werden konnte, dass die Saccharosekonzentrationen des Phloemsaftes mit zunehmender Sammeldauer anstiegen, wurden Korrekturen um den experimentell ermittelten Verdunstungsfaktor durchgeführt. Diese ergaben eine durchschnittliche Saccharosekonzentration im Phloemsaft von 0,9 M. Korrekturen der Aminosäurekonzentrationen um den Verdunstungsfaktor wurden nicht vorgenommen, da diese nicht mit der Sammelzeit korrelierten. Für eine zuverlässige Korrektur der Konzentrationen um einen Verdunstungskoeffizienten sollten weitere Versuche durchgeführt werden, bei denen die Einflüsse der verschiedenen Faktoren (Ausgangskonzentration, Anzahl der luftzugänglichen Oberflächen, Luftfeuchtigkeit, Geschwindigkeit der Exsudation und Füllvolumen der Kapillare) einzeln getestet werden

müssten, um mögliche Zusammenhänge aufzuzeigen. Das Sammeln von Phloemsaft unter Öl (Downing & Unwin, 1977; Gaupels et al., 2008) wäre mit entsprechender anschließender Trenn- und Analysetechnik eine Möglichkeit, Verdunstungseffekte zu verhindern. Eine konstante Luftfeuchtigkeit von mindestens 80% während des Sammelns der Phloemsaftproben verhindert ebenfalls stärkere Verluste durch Evaporation (Riens et al., 1991). Diese Bedingungen können jedoch nur in speziellen Klimakammern erreicht werden.

Aufgrund der verschiedenen Bedingungen während des Phloemsaftsammelns und den damit verbundenen unterschiedlichen Verdunstungseffekten waren die gemessenen absoluten Konzentrationen der Aminosäuren nicht direkt miteinander vergleichbar. Aus diesem Grund wurden anstelle der Konzentrationen einzelner Aminosäuren deren prozentuale Anteile am Gesamtaminosäurespektrum näher beleuchtet.

4.4.2 Aminosäurezusammensetzung des Phloemsaftes

Die Aminosäurezusammensetzung aller von *T. vulgare* gesammelten Phloemsaftproben wurde von den nicht essentiellen Aminosäuren Aspartat, Asparagin, Glutamat, Glutamin und Serin dominiert. Ähnliche Resultate ergaben auch Untersuchungen an Reis, Gerste, Mais, Spinat, Weizen, verschiedenen Brassicaceae und Kartoffeln (Hayashi & Chino, 1990; Weibull & Melin, 1990; Riens et al., 1991; Weiner et al., 1991; Winter et al., 1992; Caputo & Barneix, 1997; Lohaus & Moellers, 2000; Karley et al., 2002). Bei Kartoffeln konnte zudem nachgewiesen werden, dass die Dominanzen der Aminosäuren Glutamat, Glutamin und Aspartat hauptsächlich auf die Aktivitäten der Glutaminsynthase (katalysiert die Reaktion von Glutamat zu Glutamin) und der Aspartat-Aminotransferase (katalysiert die Reaktion von Glutamat zu Aspartat) in den Source-Geweben und/oder den Siebelementen zurückzuführen sind (McGrath & Coruzzi, 1991; Lam et al., 1996; Vincent et al., 1997; Finnemann & Schjoerring, 2000). Die Angaben über die prozentualen Anteile der einzelnen Aminosäuren unterschieden sich jedoch zwischen oben genannten Arbeiten zum Teil sehr stark.

Die Zusammensetzung der Aminosäurespektren kann von verschiedenen Faktoren beeinflusst werden. So spielen beispielsweise Entwicklungszustand und Alter der untersuchten Pflanzen bzw. Pflanzenteile (Hayashi & Chino, 1990; Kamachi et al., 1991; Boggio et al. 2000; Corbesier et al., 2001; Karley et al., 2002), die Lichtdauer (Winter et al., 1992), die Pflanzenart (Caputo & Barneix, 1997) bzw. der Genotyp innerhalb einer Pflanzenart (Lohaus & Moellers, 2000), der Befall mit verschiedenen Blattlausarten (Sandström et al. 2000; Sandström & Moran, 2001), aber auch der Ernährungszustand der

Pflanzen (Peuke et al., 1994) eine entscheidende Rolle. Zudem variiert die Aminosäurezusammensetzung signifikant über die Zeit (Karley et al., 2002). Einige dieser Faktoren konnten für die Untersuchungen an Rainfarn ausgeschlossen werden. So wurden gleiche Genotypen verwendet (siehe Kapitel 4.1.), welche unter standardisierten Bedingungen angezogen wurden und bei denen jeweils an einem Blatt gleicher Entwicklungsstufe (siehe Kapitel 2.6.1) die Stylektomie durchgeführt wurde.

Im Gegensatz dazu war es nicht möglich, zeitliche Veränderungen in der Zusammensetzung des Aminosäurespektrums zu beeinflussen oder zu verhindern. Diese konnten jedoch während des Langzeitversuchs eindeutig nachgewiesen werden. Bei diesem Versuch wurden über eine Dauer von 31 Tagen kontinuierlich Phloemsaftproben einer Siebröhre gesammelt und analysiert. Es zeigten sich klare zeitliche Effekte, die hauptsächlich durch die variierenden Dominanzen der Aminosäuren Aspartat, Asparagin, Glutamat, Glutamin, Serin, Arginin und Lysin zustande kamen. Auch die Analysen des Phloemsaftes weiterer Siebröhren, welche nacheinander gesammelt wurden, zeigten Unterschiede zueinander (siehe Kapitel 3.7), welche auch in diesen Fällen durch die variierenden prozentualen Anteile der dominanten Aminosäuren verursacht wurden. Diese Aminosäuren (Glutamat, Glutamin, Aspartat, Asparagin und Serin) sind im Stoffwechsel der Pflanzen von zentraler Bedeutung und werden ständig in hohen Konzentrationen synthetisiert und verbraucht.

Glutamat und Aspartat tragen jeweils eine Aminogruppe ($-NH_2$) und bilden durch die Aufnahme einer zweiten die Amide Glutamin und Asparagin. Dieser Prozess kann sowohl in der Wurzel als auch in den Mesophyllzellen der Blätter ablaufen (Heldt, 2003) und ist abhängig von der Stickstoffversorgung der Pflanzen. Bei *Ricinus* konnte gezeigt werden, dass dessen Glutamingehalt im Phloemsaft bei Erhöhung der verfügbaren Nitratkonzentration stark zunahm, während der Gehalt von Glutamat abnahm (Peuke et al., 1994). Dieser Zusammenhang konnte auch für *T. vulgare* gezeigt werden, zumindest bei den Proben, welche mittels *M. tanacetaria* gesammelt wurden. Die NH_4NO_3 -Konzentration der Nährlösungen hatte unabhängig von der zum Phloemsaftsammeln verwendeten Blattlausart ebenfalls einen Einfluss auf die relativen Konzentrationen von Aspartat und dessen Amid. Mit zunehmender N-Konzentration wurde der Anteil von Aspartat geringer, während der Anteil von Asparagin zunahm. Sowohl Glutamin als auch Asparagin fungieren in der Pflanze als Speicher- und Transportmolekül von Stickstoff und können mittels Xylem- und Phloemsaft innerhalb der Pflanze verlagert werden (Mohr & Schopfer, 1992). Im Phloemsaft von *T. vulgare* kam Asparagin in vergleichbaren relativen Konzentrationen wie Glutamin vor. Die

Synthese von Asparagin spielt in den Blättern nur eine untergeordnete Rolle. Dieses wird dagegen in hohem Maße in der Wurzel gebildet, vor allem wenn NH_4 als Stickstoffquelle im Boden zur Verfügung steht (Heldt, 2003). Die Versuchspflanzen hatten die Möglichkeit, aus den Nährlösungen sowohl NO_3 als auch NH_4 aufzunehmen, weshalb die relativ hohen Asparagingehalte des Phloemsaftes vermutlich aus der Syntheseleistung der Wurzelzellen resultierten. Die Blätter stellten in diesen Fällen anscheinend die Sink-Gewebe dar, in denen die Aminogruppen von Asparagin und Glutamin abgespalten und für die Synthese der anderen Aminosäuren verwendet wurden. Die dafür benötigten Kohlenstoffgerüste kamen aus der Photosynthese der Blätter (Abbildung 62).

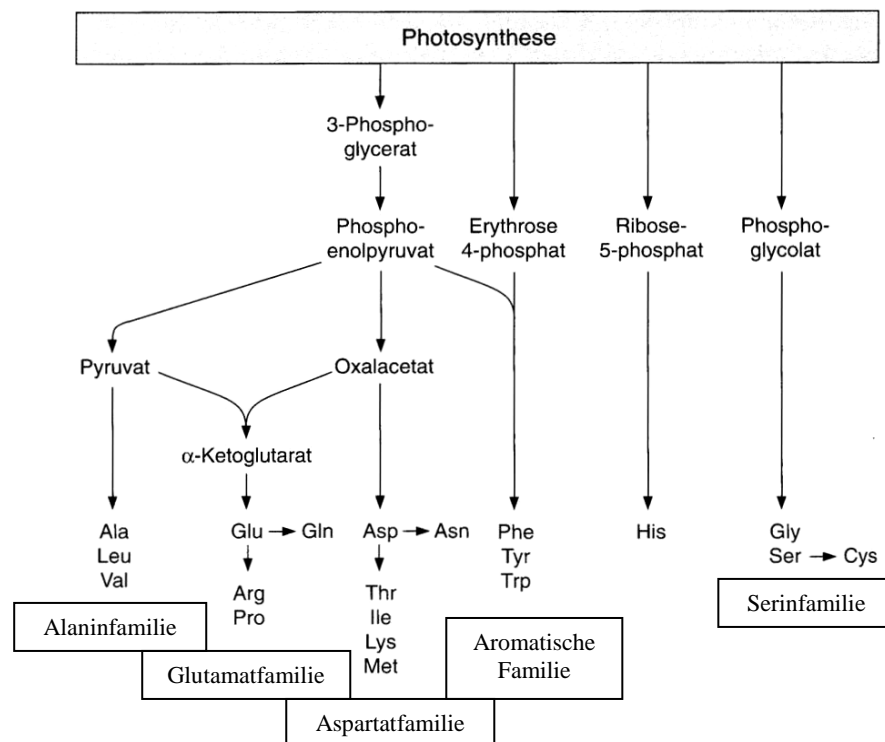


Abbildung 62: Herkunft der Kohlenstoffgerüste für die Synthese der Aminosäuren und Aminosäurefamilien (verändert nach Heldt, 2003)

Neben Asparagin werden aus Aspartat auch die Aminosäuren Threonin, Isoleucin, Lysin und Methionin gebildet. Deren Synthese (mit Ausnahme von Methionin) hängt jedoch vom Bedarf ab und wird durch die Aminosäuren selbst kontrolliert, da diese die Reaktionen hemmen, wenn ausreichend Endprodukte vorhanden sind (Heldt, 2003). Die Rückkopplungskontrolle von Threonin, Isoleucin und Lysin erklärt die verhältnismäßig gleich bleibenden relativen Konzentrationen dieser Aminosäuren trotz höherer N-Versorgung und

deutlicher Dominanz von Aspartat im Phloemsaft (Abbildung 19, 21). Die minimale Zunahme der relativen Konzentration von Lysin bei den Versuchspflanzen, an denen *U. tanacetii* saugte (Abbildung 19), wurde dennoch als Reaktion auf die erhöhte N-Zufuhr betrachtet, da Lysin neben Asparagin und Glutamin zwei Aminogruppen besitzt. Weiterhin konnte bei diesen Pflanzen und bei der Einteilung der Düngungsstufen in niedrige (1/3 mM) und hohe (6/12 mM) NH_4NO_3 -Versorgung ein leichter Rückgang der prozentualen Anteile von Isoleucin, Phenylalanin und Valin beobachtet werden. Dieser resultierte allerdings aus dem starken Zuwachs des prozentualen Anteils von Arginin.

Arginin geht aus Glutamin (Abbildung 62) hervor und besitzt vier N-Atome. Damit stellt Arginin die proteinogene Aminosäure mit dem höchsten Stickstoffanteil dar, deren Syntheserate bei guter N-Verfügbarkeit im Boden ansteigen sollte. Bei Rainfarn, an dem *U. tanacetii* saugte, konnte dies auch gezeigt werden. Die prozentualen Anteile von Arginin stiegen bei diesen Pflanzen mit zunehmender N-Versorgung von 5 auf 11% an. Diese Werte erschienen sehr hoch, verglichen mit Werten (2,6 - 3%), welche für Kartoffeln veröffentlicht wurden (Karley et al., 2002). Bei den Phloemsaftproben, die mittels *M. tanacetaria* gesammelt wurden, zeigte sich kein Anstieg der Arginingehalte nach Erhöhung der N-Zufuhr. Jedoch lagen auch bei diesen Pflanzen die Werte zwischen 6 - 9%. Die Stichprobengröße war bei jenen Pflanzen allerdings um ein Vielfaches geringer, sodass nährstoffbedingte Änderungen aufgrund der individuellen Unterschiede der Pflanzen möglicherweise nicht ausreichend herausgearbeitet werden konnten.

Die Erhöhung der N-Versorgung führte bei den beiden zum Phloemsaft sammeln verwendeten Blattlausarten nicht zum Anstieg der Konzentrationen der Aminosäuren Serin, Glycin, Alanin, Leucin, Valin, Phenylalanin und Tyrosin.

Serin und Glycin werden beide als Zwischenprodukt der Photorespiration gebildet und stellen einen erheblichen Anteil der von den Mesophyllzellen gelieferten Aminosäuren dar (Heldt, 2003). Dies konnte bei *T. vulgare* zumindest für Serin bestätigt werden, da diese Aminosäure stets in sehr hohen relativen Konzentrationen nachgewiesen wurde. Diese betrugen zum Teil mehr als 20% am Gesamtspektrum, was für andere Pflanzen bisher nicht gezeigt werden konnte (Hayashi & Chino, 1990; Winter et al., 1992; Caputo & Barneix, 1997; Karley et al., 2002). Möglicherweise lag dies an dem Ammoniumanteil der Nährlösungen, da NH_4 -versorgte Pflanzen im Allgemeinen mehr Serin produzieren als NO_3 -versorgte Pflanzen (Kpodar et al., 1993).

Alanin, Leucin und Valin gehen ebenfalls auf eine gemeinsame Ausgangssubstanz (Pyruvat) zurück, wobei die Synthesen von Leucin und Valin durch die Aminosäuren selbst

reguliert werden. Deren gemessene relative Konzentrationen bei *T. vulgare* entsprachen denen von Spinat, Gerste, Raps, Äthiopischem Senf und Kartoffeln (Riens et al., 1991; Winter et al., 1992; Lohaus & Moellers, 2000; Karley et al., 2002).

Die aromatischen Aminosäuren Phenylalanin und Tyrosin sind häufig Ausgangspunkte für sekundäre Pflanzenstoffe (Mohr & Schopfer, 1992). Die Bildung dieser Aminosäuren wird durch die Endprodukte an verschiedenen Schritten des Syntheseweges kontrolliert (Heldt, 2003), was deren gleich bleibende Konzentrationen trotz Erhöhung der N-Zufuhr erklärt.

Methionin und Tryptophan konnten aufgrund der verwendeten Nachweismethode nicht als einzelne Peaks dargestellt werden. Daher war es an dieser Stelle nicht möglich zu klären, auf welche Aminosäure die signifikante Abnahme der relativen Konzentration, welche mit Zunahme der NH_4NO_3 -Versorgung der Pflanzen einherging, zurückzuführen war. Dieser Effekt wurde allerdings nur bei jenen Pflanzen festgestellt, an denen *U. tanacetii* saugte.

4.5 Einfluss der zum Phloemsaft sammeln verwendeten Blattlausarten auf die Zusammensetzung der Aminosäuren im Phloemsaft

Im vorangegangenen Kapitel wurde bereits besprochen, dass die relative Konzentration von Methionin + Tryptophan mit dem Stickstoffangebot der Nährlösung zusammenhing. Zudem hatte aber auch die an den Pflanzen saugende Blattlausart einen signifikanten Einfluss auf den Anteil dieser Aminosäuren am Gesamtgehalt. Dieser war bei den Pflanzen, an denen *U. tanacetii* saugte, um ein Vielfaches höher als bei jenen Pflanzen, welche mit *M. tanacetaria* beprobt wurden (Abbildung 24). Neben Methionin und Tryptophan konnten zudem die Aminosäuren Valin, Phenylalanin und Leucin in höheren relativen Konzentrationen im Phloemsaft von mit *U. tanacetii* befallenen Pflanzen nachgewiesen werden als in Siebröhrenexsudaten, die mittels *M. tanacetaria* gesammelt wurden.

Es ist zum einen bekannt, dass Pflanzen auf den Befall von Pathogenen und herbivoren Insekten mit diversen Abwehrmechanismen reagieren (Reymond et al., 2000; Walling, 2000; Baldwin et al., 2001). Diese Regulationen finden zumeist auf molekularer Ebene statt, wobei verschiedene Gene für Synthesewege von Abwehrsubstanzen verstärkt abgelesen werden (Gatehouse, 2002; Kessler & Baldwin, 2003; Taylor et al., 2004). Zum anderen konnte aber auch gezeigt werden, dass ein Befall mit *M. persicae* an Sellerie zu einer signifikanten Hochregulation einer Reihe weiterer Gene führen kann, die verschiedene Funktionen innerhalb der Pflanze ausführen. Davon betroffen sind Gene, die für Zellwandmodifikationen, Wassertransport, Kohlenstoffassimilation und -mobilisierung, aber auch Vitaminbiosynthese

und Stickstoffmobilisierung verantwortlich sind (Divol et al., 2005). Die Mobilisierung von Stickstoff als Reaktion auf Blattlausbefall führt häufig zur Veränderung der Aminosäurezusammensetzung und zum Anstieg der Konzentration im Phloemsaft. Dies erhöht die Pflanzenqualität für die Blattläuse und konnte für verschiedene Arten bereits nachgewiesen werden (Telang et al., 1999; Sandström et al., 2000; Girousse et al., 2003). Wie diese Pflanzenreaktion ausgelöst wird und ob nur bestimmte Blattlausarten diese Fähigkeit besitzen ist bisher nicht bekannt. Es sprechen allerdings einige Beweise dafür, dass das Ausmaß der Pflanzenreaktion von den an den Pflanzen saugenden Blattlausarten beeinflusst wird. So untersuchten Sandström & Moran (2001) drei verschiedene Aphidenarten an Weizen und wiesen nach, dass zwei der getesteten Arten (*Schizaphis graminum* und *Diuraphis noxia*) eine Erhöhung des Aminosäuregehaltes im Phloemsaft der Pflanzen verursachten. Zudem konnte ein deutlicher Anstieg mehrerer essentieller Aminosäuren, wie zum Beispiel Leucin, Phenylalanin, Valin, Methionin und Tryptophan, nach Befall durch *S. graminum* gezeigt werden. Dieses Ergebnis deckt sich mit den Beobachtungen an *T. vulgare* nach Befall durch *U. tanacetii*, der auch zur Erhöhung der relativen Konzentrationen dieser Aminosäuren im Phloemsaft führte.

Ferner stellte Sandström et al. (2000) bei der Verwendung der genannten Blattlausarten fest, dass diese unterschiedliche, makroskopisch sichtbare Schäden an den befallenen Pflanzen hinterließen. Eine Art, die keine wesentlichen Veränderungen der Aminosäurekonzentrationen auslöste (*Rhopalosiphum padi*), führte auch nicht zu sichtbaren Schäden an den getesteten Pflanzen (Weizen und Gerste). Hingegen verursachte der Befall mit *S. graminum* und *D. noxia* deutliche chlorotische Schäden an den Pflanzen und die bereits erwähnten Anstiege der Aminosäurekonzentrationen. Das Ausmaß der sichtbaren Schädigungen an *T. vulgare*, ausgelöst durch den Befall der in dieser Arbeit verwendeten Blattlausarten *U. tanacetii* und *M. tanacetaria*, wurde daraufhin ebenfalls untersucht (siehe Kapitel 3.15). Es zeigten sich deutliche Unterschiede zwischen den verwendeten Blattlausarten, die sich durch die Anzahl geschädigter Blätter und deren Schädigungsart äußerten. Der Befall der Pflanzen mit *U. tanacetii* führte zu einer von den Blatt- bzw. Fiederspitzen ausgehenden Vergilbung der ältesten Blätter, an denen diese Art bevorzugt saugte. Die befallenen Blätter vertrockneten nach der Vergilbung schnell und die Aphiden siedelten auf darüber liegende Blätter um, welche ebenfalls auf die gleiche Weise geschädigt wurden. Durch diese Vorgehensweise führte der Befall von *U. tanacetii* im Verlauf von wenigen Wochen zum Absterben der Pflanze, wenn die Tiere nicht frühzeitig die Möglichkeit hatten, auf andere Pflanzen auszuweichen. Es ist bisher unklar, auf welche Prozesse diese

Blattvergilbung zurückgeführt werden kann. Zum einen ist es möglich, dass Bestandteile des Blattlausspeichels spezielle Pflanzenreaktionen hervorrufen (Al-Mousawi et al., 1983; Fouché et al., 1984; Madhusudhan & Miles, 1998). Die Zusammensetzung des Speichels ist sehr komplex und über die Funktionen der einzelnen Bestandteile ist bislang nur sehr wenig bekannt (Baumann & Baumann, 1995; Miles, 1999; Cherqui & Tjallingii, 2000). Möglicherweise lösen die Aphiden durch ihren Speichel eine vorzeitige Seneszenz aus, die zur Erhöhung der Aminosäurekonzentration im Phloemsaft führt und somit dessen Qualität für die Tiere aufwertet (Dorschner et al., 1987; Divol et al., 2005). Zum anderen könnte die Saugaktivität der Blattläuse zu Verstopfungen der Siebelemente führen, welche einerseits die Nährstoffversorgung der äußeren Pflanzenteile unterbricht und andererseits den Abtransport verschiedener Stoffwechselprodukte unterbindet, was zu einer Anreicherung dieser Substanzen in den äußersten Blattspitzen führen würde. Beide Theorien sind denkbar, wobei zur Klärung dieser Fragestellung weitere Untersuchungen nötig wären.

Der Befall mit *M. tanacetaria* äußerte sich in völlig anderer Weise. Diese Tiere besiedelten hauptsächlich junge Blätter, an denen keine sichtbaren Schäden erzeugt wurden. Die alten Blätter dieser Pflanzen vertrockneten ebenso nach einer gewissen Zeit (18% nach vier Wochen Blattlausbefall). Dies wurde jedoch auf die natürliche Seneszenz der Blätter zurückgeführt, da zu keiner Zeit die auffällige Vergilbungssymptomatik, die von *U. tanaceti* ausgelöst wurde, beobachtet werden konnte. Die Pflanzen überlebten den Besatz von *M. tanacetaria* über einen sehr viel längeren Zeitraum. Die dargestellte Schädigungsweise und die Erkenntnisse, dass verschiedene essentielle Aminosäuren nach Befall mit *U. tanaceti* in höheren Konzentrationen gemessen wurden, deutet darauf hin, dass diese Blattlausart den Phloemsaft offenbar zu ihren Gunsten beeinflussen kann.

4.6 Unterschied zwischen Aminosäuregehalt des Phloemsafes und des Honigtaus sowie Rolle der Endosymbionten bei der Bereitstellung der essentiellen Aminosäuren

Es wurde bereits mehrfach gezeigt, dass Phloemsaft aus einer sehr unausgewogenen Aminosäurezusammensetzung besteht und besonders die für Insekten essentiellen Aminosäuren nur in sehr geringen Konzentrationen darin vorkommen (Sandström & Moran, 1999, 2001; Bernays & Klein, 2002). Um den Bedarf der Blattläuse an speziellen Aminosäuren und die Effizienz der Stickstoffaufnahme aus deren Nahrung zu untersuchen, wird häufig der Honigtau der Aphiden mit dem Phloemsaft der Wirtspflanzen verglichen (z. B. Douglas, 1993). Dies wurde auch in der vorliegenden Arbeit vorgenommen (siehe

Kapitel 3.8). Dabei zeigte sich, dass die Blattläuse die Aminosäuren sehr effizient aufnahmen, da die Tiere dem Phloemsaft bis zu 99% der Aminosäuren entzogen. Dieses Ergebnis deckt sich mit Untersuchungen mehrerer Blattlausarten an Weizen (Sandström & Moran, 2001) und an künstlichen Diäten (Rhodes et al., 1996; Febvay et al., 1999). Im Honigtau der Aphiden waren alle Aminosäuren enthalten, die auch im Phloemsaft von *T. vulgare* nachgewiesen werden konnten. In höheren Konzentrationen wurden allerdings nur die ebenfalls im Phloemsaft dominierenden Aminosäuren Aspartat, Asparagin, Glutamat, Glutamin und Serin abgegeben. Ein ähnliches Ergebnis erzielte Woodring et al. (2004), der den Honigtau von fünf an *T. vulgare* saugenden Blattlausarten untersuchte.

Die Zusammensetzung des Honigtaus entspricht meist nicht exakt der des Phloemsaftes, da innerhalb der Blattläuse verschiedene Assimilationsprozesse stattfinden und die im Honigtau enthaltenen Aminosäuren auch aus dem Stoffwechsel der Aphiden selbst stammen können (Douglas, 1993). Der Vergleich der Zusammensetzung beider Probenarten bei *T. vulgare* bestätigte dies, da die Blattläuse dem Phloemsaft hauptsächlich die nicht essentiellen Aminosäuren Glutamat und Glutamin sowie die essentiellen Aminosäuren Arginin und Methionin + Tryptophan entzogen. Hingegen war im Honigtau die Aminosäure Phenylalanin gegenüber dem Phloemsaft angereichert. Die Tatsache, dass die Tiere dem Phloemsaft nicht alle essentiellen Aminosäuren entnahmen, ergab sich vermutlich aus der Sammelmethode des Honigtaus. Durch wiederholtes Antippen des Abdomens wurden die Tiere zur Abgabe der Honigtautropfen bewegt. Dabei wurde anscheinend auch Material ausgeschieden, welches erst kurze Zeit zuvor aufgenommen wurde und bei dem die vollständige Absorption der essentiellen Aminosäuren noch nicht möglich war.

Dass Arginin im Honigtau in geringeren relativen Konzentrationen gegenüber dem Phloemsaft nachgewiesen wurde, konnte nicht befriedigend geklärt werden. Es wird angenommen, dass Blattläuse überschüssigen Stickstoff in Form von Arginin abgeben (Sasaki & Ishikawa, 1993; Sasaki et al., 1993), weshalb diese Aminosäure im Honigtau angereichert hätte sein müssen. Für die in dieser Arbeit verwendeten Blattläuse konnte dies nicht bestätigt werden.

Die starke Absorption der nicht essentiellen Aminosäuren Glutamat und Glutamin aus dem Phloemsaft von *T. vulgare* begründet sich in der Tatsache, dass die Blattläuse bestimmte nicht essentielle Aminosäuren (Glutamat, Glutamin und Asparagin) zur Synthese von essentiellen Aminosäuren verwenden (Dixon, 1998). Für diese Prozesse innerhalb der Blattläuse sind deren primäre Endosymbionten der Art *Buchnera aphidicola* (Douglas, 1998; Shigenobu et al., 2000) verantwortlich, welche die unausgewogene und äußerst variable Nahrung der

Aphiden aufwerten. Die Bakterien wandeln nicht nur die nicht essentiellen Aminosäuren des Phloemsaftes zu essentiellen Aminosäuren um, sondern auch die Stickstoffabbauprodukte aus dem Stoffwechsel der Blattläuse (Abbildung 63). Ohne die bakteriellen Mikroorganismen, die von den Aphiden in speziellen Bakteriocyten beherbergt werden, wäre es den Tieren nicht möglich, sich von Phloemsaft zu ernähren, da dessen geringer Anteil an essentiellen Aminosäuren für das Wachstum und die Reproduktion der Blattläuse nicht ausreichen würde. Untersuchungen mit symbiontenfreien Blattläusen haben dies mehrfach bestätigt (Houk & Griffiths, 1980; Prosser & Douglas, 1991; Liadouze et al., 1995; Wilkinson, 1998).

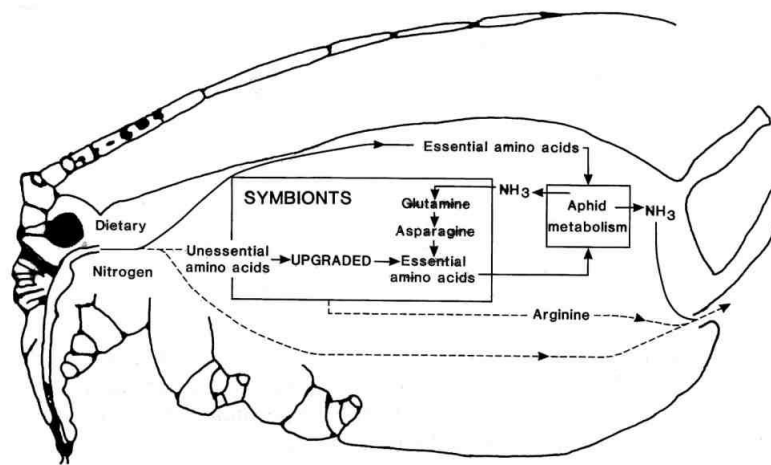


Abbildung 63: Stickstoffmetabolismus innerhalb der Blattlaus. Die bakteriellen Endosymbionten spielen eine entscheidende Rolle bei der Aufwertung und dem Recycling der Aminosäuren (nach Dixon, 1998).

Die für die Synthese der Aminosäuren benötigten Gene wurden bereits bei den Symbionten mehrerer Blattlausarten (*A. pisum*, *M. persicae*, *S. graminum*, *D. noxia*, u. a.) nachgewiesen. Allerdings wurden auch Unterschiede zwischen der Genomausstattung der Endosymbionten verschiedener Aphidenarten deutlich. Die Bakterien der Blattlausarten *A. pisum* und *S. graminum* verfügen anscheinend nicht über die Fähigkeit, Methionin zu synthetisieren (Shigenobu et al., 2000; Tamas et al., 2002). Weiterhin konnte für verschiedene Blattlausarten, wie z. B. *R. padi*, *S. graminum* und *D. noxia*, gezeigt werden, dass spezielle Gene für die Biosynthese von Leucin (Bracho et al., 1995; Thao et al., 1998) und Tryptophan (Lai et al., 1994; Rouhbakhsh et al., 1996) auf zusätzlichen Plasmiden der Bakterien lokalisiert sind (Douglas, 1998) und Kopien dieser Gene in unterschiedlicher Anzahl vorkommen. Die Symbionten mit einer geringen Anzahl an Genkopien können ihre Wirte nur mit einer begrenzten Menge der entsprechenden Aminosäure versorgen. Diese Blattlausarten (z. B. *Schlechtendalia chinensis*, *D. noxia*) entwickeln sich zwar langsamer als Aphidenarten,

wie z. B. *S. gaminum*, deren Symbionten Genamplifikationen aufweisen (Baumann et al., 1997a), zeigen jedoch keine Mangelercheinungen. Einige dieser Aphidenarten lösen jedoch massive Schädigungen an den befallenen Pflanzen und einen Anstieg der Aminosäurekonzentration im Phloemsaft aus. Da hauptsächlich die Konzentration der essentiellen Aminosäuren im Phloemsaft der Pflanzen durch die Saugaktivitäten der Blattläuse ansteigt (Sandström et al., 2000), wird davon ausgegangen, dass diese Blattlausarten den Stoffwechsel der Pflanzen zu ihren Gunsten beeinflussen und auf die Versorgung durch die Symbionten nicht mehr so stark angewiesen sind (Baumann et al., 1997a; Lai et al., 1996; Sandström & Moran, 2001). Vermutlich reduzierte sich aus diesem Grund das Genom der Mikroorganismen.

Dies könnte auch bei der in dieser Arbeit verwendeten Blattlausart *U. tanacetii* der Fall gewesen sein, da im Phloemsaft von *T. vulgare* höhere relative Konzentrationen von Methionin + Tryptophan und Leucin gemessen werden konnten, wenn *U. tanacetii* an den Pflanzen saugte. Möglicherweise gehört *U. tanacetii* ebenfalls zu den Blattlausarten, die befähigt sind, den Stoffwechsel der Pflanzen in der Weise zu beeinflussen, dass diese mehr essentielle Aminosäuren bereitstellen. Eventuell ist dann auch deren Symbiontengenom in Bezug auf die Anzahl der Gene für die Synthese von Tryptophan und/oder Leucin reduziert.

Verschiedene Arten der Gattung *Uroleucon* (Baumann et al., 1997b; Rouhbakhsh, et al., 1997; Wernegreen et al., 2001) und eine Art der mit *Uroleucon* verwandten (Moran et al., 1999) Gattung *Macrosiphoniella* wurden daraufhin untersucht. Bei *Uroleucon* Symbionten konnte bereits der Funktionsverlust einiger Kopien von Tryptophangenen gezeigt werden (Baumann et al., 1997b). Tryptophan ist eine Aminosäure, die besonders von den schnell wachsenden Blattlausarten in großen Mengen benötigt wird und deren Gehalt im Phloemsaft für den Bedarf bestimmter Blattlausarten (z. B. *U. ambrosiae*) nicht ausreicht (Bernays & Klein, 2002). Blattlausarten, die nicht befähigt sind, den Stoffwechsel der Pflanzen zu beeinflussen, sind in hohem Maße auf die Synthese dieser essentiellen Aminosäure durch ihre Symbionten angewiesen. Wie sich dies bei *U. tanacetii* verhält wurde bisher nicht untersucht. Hinweise, wie z. B. die Schädigungseffekte an den Pflanzen und höhere Konzentrationen einiger essentieller Aminosäuren (besonders Methionin + Tryptophan) nach Befall der Pflanzen durch *U. tanacetii*, sprechen allerdings dafür, dass diese Art die Fähigkeit besitzt, die Pflanzen zu ihren Gunsten zu beeinflussen. Weitere Untersuchungen zu *U. tanacetii* und molekularbiologische Studien der Symbionten dieser Art sollten unbedingt durchgeführt werden.

4.7 Blattlausverhalten an unterschiedlich NH_4NO_3 -gedüngten Rainfarnpflanzen

Die bakterielle Syntheserate der essentiellen Aminosäuren aus den nicht essentiellen Aminosäuren steigt mit abnehmender Versorgung durch die Nahrung an (Febvay et al., 1999; Douglas et al., 2001). Neben der Aminosäurezusammensetzung (Stickstoffqualität) ist daher auch die Gesamtmenge der Aminosäuren im Phloemsaft (Stickstoffquantität) von enormer Bedeutung (Karley et al., 2002) und beeinflusst die Entwicklung und das Verhalten der Blattläuse (Febvay et al., 1988; Prosser et al., 1992; Abisgold et al., 1994). Sowohl die EPG-Messungen als auch die Präferenzversuche an *T. vulgare* zeigten, dass die Blattläuse Unterschiede in den Pflanzenqualitäten wahrnehmen konnten und darauf reagierten. Dabei zeigten beide Blattlausarten ein leicht voneinander abweichendes Such- und Saugverhalten. Bei den EPG-Messungen äußerte sich dies in der Anzahl der Blatt- und Phloemanstiche, von denen *U. tanacetii* weniger benötigte als *M. tanacetaria*, um geeignete Siebröhren ausfindig zu machen. Ferner saugte *U. tanacetii* bevorzugt an 6 mM Pflanzen, welche eine höhere Gesamtaminosäurekonzentration aufwiesen als die 1 und 3 mM NH_4NO_3 versorgten Pflanzen, wohingegen bei *M. tanacetaria* nur an den 1 mM Pflanzen signifikant kürzere Saugphasen beobachtet wurden. Dies konnte bei beiden Arten sowohl für die Gesamtdauer im Phloemgewebe als auch für die durchschnittliche Dauer pro Siebröhre gezeigt werden. Die Ergebnisse der Präferenzversuche spiegeln das Verhalten der Blattläuse während der EPG-Messungen wider. Bei der Auszählung der Aphiden an den Blättern der unterschiedlich N-versorgten Pflanzen ergaben sich für beide Arten ähnliche Effekte wie bei den oben erwähnten EPG-Auswertungen. Die Blattläuse der Art *M. tanacetaria* saugten auch bei diesen Versuchen signifikant seltener an den 1 mM Pflanzen. Bei *U. tanacetii* wich die Verteilung der Blattläuse an den Blättern etwas von den Resultaten der EPG-Messungen ab, da die Tiere die 12 mM Pflanzen in gleicher Weise präferierten wie die 6 mM Pflanzen. Es konnte gezeigt werden, dass mit zunehmender N-Versorgung der Pflanzen die Gesamtaminosäurekonzentration im Phloemsaft zunahm (siehe Kapitel 3.4). Die Aminosäurekonzentration im Phloemsaft wird als Index für die Pflanzenqualität verstanden (Douglas, 1993). Aus diesem Grund wurde erwartet, dass mit zunehmender N-Düngung sowohl die Saugdauer der Blattläuse im Phloemgewebe als auch die Anzahl der an den Blättern saugenden Aphiden während der Präferenzversuche linear ansteigt. Entsprechende Beobachtungen wurden allerdings nicht gemacht. Vielmehr schien *U. tanacetii* nur zwischen niedriger (1 und 3 mM) und hoher (6 und 12 mM) NH_4NO_3 -Düngung zu unterscheiden, wobei sich das Verhalten an den Pflanzen innerhalb dieser Düngungsstufen kaum unterschied. Auch *M. tanacetaria* schien

lediglich zwischen wenig und stärker gedüngt zu unterscheiden, da zwischen den 3, 6 und 12 mM NH_4NO_3 -versorgten Pflanzen keine Unterschiede deutlich wurden. Eine mögliche Erklärung dieses Verhaltens könnte sich aus den Nährstoffbedingungen von Pflanzen natürlicher Rainfarnhabitats ergeben. Wie anhand der Bestimmungen der C/N-Verhältnisse der Blattproben und der Ammonium- und Nitratgehalte des Bodens gezeigt werden konnte, wuchsen die untersuchten Rainfarnpflanzen auf dem Universitätsgelände unter Stickstoffbedingungen, die den 1 und 3 mM NH_4NO_3 -Nährlösungen entsprachen. Diese Ergebnisse können aufgrund der geringen Stichprobengröße und Wiederholungen sowie des begrenzten Beprobungsgebietes nicht pauschalisiert werden. Dennoch wird *T. vulgare* im Allgemeinen als Pflanze mit mittlerem N-Bedarf eingestuft (Ellenberg, 1979). Die in dieser Arbeit verwendeten Blattlausarten *U. tanacetii* und *M. tanacetaria* sind monophag für *T. vulgare* und daher eng an diese Pflanzenart angepasst. Möglicherweise stellte die starke N-Düngung der Pflanzen (6 und 12 mM NH_4NO_3) eine für die Blattläuse äußerst unnatürliche Situation dar, sodass diese nicht in der erwarteten Weise auf die hohe Nährstoffzufuhr reagierten. Ähnliche Resultate wurden auch bei Untersuchungen zum Einfluss von N-Düngung auf Kiefern und deren Blattläuse (*Schizolachnus pineti*) von Kainulainen et al. (1996) beschrieben. Dieser berichtete, dass der Anstieg der N-Versorgung bei den Blattläusen zwar zur Erhöhung der relativen Wachstumsrate der Tiere führte, der Unterschied zwischen optimaler und maximaler N-Düngung jedoch sehr gering war. Möglicherweise waren höhere Gehalte an sekundären Pflanzenstoffen bei stark gedüngten Pflanzen für diese Ergebnisse verantwortlich, wobei über deren Einfluss auf Blattläuse nur wenig bekannt ist (Pickett et al., 1992).

Die Verbesserung der Pflanzenqualität hat auf Aphiden unterschiedliche Auswirkungen und führt häufig zu einer Erhöhung der Produktion von Nachkommen (Grüber & Dixon, 1988; Walters et al., 1988; Stadler, 1995). Dieser Zusammenhang konnte für *M. tanacetaria* von Stadler (2002, 2004) nachgewiesen werden. Er zeigte, dass die Tiere an Rainfarnpflanzen hoher Qualität eine schnellere Entwicklung durchliefen und mehr Nachwuchs hervorbrachten. Die Berechnung der Reproduktionsraten in der vorliegenden Arbeit bestätigten Stadlers Ergebnisse, wobei eine lineare Zunahme der Anzahl abgesetzter Larven nur bis zu den 6 mM Pflanzen beobachtet wurde.

Nach welchen Kriterien Aphiden die Qualität ihrer Wirtspflanzen beurteilen ist nicht bekannt. Allerdings haben verschiedene Aminosäuren im Phloemsaft einen Einfluss auf das Verhalten der Aphiden. So konnte beispielsweise nachgewiesen werden, dass die Aminosäure Methionin eine phagostimulatorische Wirkung auf die Blattlausart *M. persicae* hat (Mittler,

1967; Douglas, 1988). Ein hoher Glutamatgehalt im Phloemsaft signalisiert den Aphiden hingegen eine schlechte Nahrungsqualität (Douglas, 1993) und reduziert deren Interesse an den Pflanzen (Weilbull, 1988; Chen et al., 1997). Blattläuse haben scheinbar die Fähigkeit, spezielle Aminosäuren des Phloemsaftes zu schmecken und unterscheiden je nach deren Konzentration zwischen schlechter und guter Nahrungsqualität. Chemorezeptoren, welche diese Funktion möglicherweise erfüllen, wurden in der vorderen Region des Futterkanals nachgewiesen (Wensler & Filshie, 1969). Informationen von der Blattoberfläche (z. B. Blattdüfte) nehmen die Tiere zusätzlich mit Hilfe der auf den Antennen der Blattläuse lokalisierten Sensillen wahr, welche Chemo- oder Geschmacksrezeptoren enthalten (Shambaugh et al., 1978, Bromley et al., 1979, 1980; Bromley & Anderson, 1982). Neben diesen Sinnesorganen, die der Wirtspflanzenwahl dienen, wurden weitere an der Rüsselspitze festgestellt. Mit diesen tasten die Tiere die Pflanzenoberfläche auf der Suche nach geeigneten Saugorten ab. Die äußeren Eigenschaften der unterschiedlich N-versorgten Rainfarnpflanzen (z. B. Blattoberfläche, Blattduft) waren anscheinend gleich, da die Aphiden keine Unterschiede im Suchverhalten zwischen den unterschiedlichen Pflanzen zeigten. Die Zeit bis zum ersten Einstich in die Blätter (Daten nicht gezeigt) war zwischen den Pflanzen unterschiedlicher Qualität nicht signifikant verschieden. Dies wäre jedoch der Fall gewesen, wenn die Tiere bestimmte Pflanzen aufgrund äußerlich wahrgenommener Anzeichen für niedrige Nahrungsqualität abgelehnt hätten. Die Informationen über die Pflanzen, welche die Blattläuse auf dem Weg zum Phloem durch das Anstechen einer Vielzahl von Zellen erhielten, gab den in dieser Arbeit beobachteten Tieren offenbar auch keine Veranlassung, bestimmte Pflanzen abzulehnen, obwohl während der Zellanstiche geringe Mengen Zellsaft aufgenommen werden (Tjallingii, 1978). Nach Erreichen der Siebröhren wurde allerdings deutlich, dass die Blattläuse mit dem darin enthaltenen Phloemsaft unterschiedlich zufrieden waren. Die gesamte und mittlere Phloemsaugdauer der Aphiden an Pflanzen mit geringerer Aminosäurekonzentration war reduziert gegenüber Pflanzen mit höherer Nahrungsqualität. Anscheinend konnten die Tiere einzelne Aminosäuren oder die geringen Gesamtkonzentrationen im Phloemsaft wahrnehmen und verließen daher häufiger die angestochenen Siebröhren, um nach qualitativ hochwertigeren Phloemgefäßen zu suchen. Für *M. tanacetaria* konnte dies eindeutig gezeigt werden, da der Vergleich zwischen 1 mM und 12 mM NH_4NO_3 -Pflanzen ergab, dass zum einen kürzere Phloemsaugphasen in den 1 mM Pflanzen vorkamen und zum anderen die Gesamtdauer der Suchphasen im Gewebe dieser Pflanzen erhöht war. Die Saugdauer von *U. tanacetii* in 1 mM und 3 mM NH_4NO_3 -Pflanzen war ebenfalls von geringerer Dauer als in Pflanzen höherer Nährstoffqualität (6 mM).

Allerdings spiegelte sich deren Ablehnung gegenüber den Pflanzen schlechterer Qualität nicht in einer längeren Suchphase wider. Vielmehr konnte bei Tieren dieser Art ein signifikanter Anstieg der Saugdauer im Xylemgewebe bei 1 mM Pflanzen beobachtet werden. Möglicherweise nahmen die Blattläuse zusätzlich die im Xylem transportierten Aminosäuren (Glutamin, Asparagin) auf. Bisher gibt es keine Untersuchungen, die diese Möglichkeit in Betracht ziehen. Es wird vielmehr davon ausgegangen, dass Blattläuse durch die Aufnahme von Xylemsaft ihren Wasserhaushalt regulieren und Wasserdefizite nur nach längeren Phasen ohne Phloemaktivitäten auftreten (Powell & Hardie, 2002). Xylemsaugphasen während EPG-Messungen werden in der Literatur meist vernachlässigt (z. B. Prado & Tjallingii, 1997; Wilkinson & Douglas, 1998; Caillaud & Via, 2000), da diese nur vereinzelt bei ungeflügelten, jedoch vermehrt bei geflügelten Blattläusen vorkommen (Powell & Hardie, 2001). Diese Aussage konnte durch die in der vorliegenden Arbeit getätigten Beobachtungen an den ungeflügelten Morphen der Blattlausarten *M. tanacetaria* und *U. tanacetii* widerlegt werden, da die Aufnahme von Xylemsaft häufig beobachtet wurde (*U. tanacetii*: 37%; *M. tanacetaria*: 47%) und meist von längerer Dauer war (13 - 17% der Gesamtmessung). Es war im Vorfeld der EPG-Messungen bekannt, dass Xylemphasen hauptsächlich nach langen Hungerperioden vorkommen (Spiller et al., 1990). Um derartige Verfälschungen im Verhalten der Tiere zu vermeiden, wurde vor den einzelnen Messungen darauf geachtet, dass die Blattläuse die Möglichkeit hatten Phloemsaft aufzunehmen. Die Aufnahme von Xylemsaft scheint entgegen der allgemeinen Meinung (z. B. Powell & Hardie, 2002) zum natürlichen Verhaltensrepertoire der Aphiden zu gehören. Ob die Tiere Xylemsaft aufnehmen, um ihren Wasserbedarf zu decken, welcher möglicherweise durch das osmotische Potential des Phloemsaftes entsteht oder ob diese aus dem Xylemsaft zusätzliche Aminosäuren aufnehmen, bleibt weiteren Studien vorbehalten.

5. Zusammenfassung

Der Einfluss von unterschiedlicher Stickstoffdüngung auf die Aminosäurekonzentration und -zusammensetzung des Phloemsaftes von Rainfarn (*Tanacetum vulgare* L.) wurde untersucht sowie Verhaltensbeobachtungen an den monophagen Blattlausarten *Uroleucon tanacetii* (Mordv.) und *Macrosiphoniella tanacetaria* (Kalt.) durchgeführt, um zu klären, ob die Aphiden Unterschiede zwischen verschiedenen stickstoffversorgten Pflanzen wahrnehmen und Präferenzen für bestimmte Pflanzen zeigen. Für die Bearbeitung dieser Fragestellung wurden genetisch identische Pflanzen 1 - 3 Monate mit Nährlösungen angezogen, welche alle benötigten Mikro- und Makronährstoffe in gleichen Mengen enthielten, sich jedoch in der Stickstoffkonzentration unterschieden (1, 3, 6, 12 mM NH_4NO_3).

Die ansteigende N-Konzentration in den Nährlösungen führte zu einer Zunahme der oberirdischen Biomasse und den Blattflächen sowie zu einer Abnahme der Wurzel/Spross- und C/N-Verhältnisse. Ein Vergleich der C/N-Verhältnisse von Freilandpflanzen mit denen im Gewächshaus mit Nährlösung angezogenen Pflanzen und die Bestimmung von Nitrat- und Ammoniumkonzentrationen in den Bodenlösungen von Rainfarnhabitaten zeigten, dass die 1 und 3 mM Nährlösungen den Stickstoffbedingungen natürlicher Standorte entsprachen.

Zur Gewinnung des reinen Phloemsaftes wurde die Methode der Stilettamputation (Stylektomie oder Aphidenteknik) mit *U. tanacetii* und *M. tanacetaria* durchgeführt, wobei sich beide Arten für diese Technik sehr gut eigneten. Es konnte nachgewiesen werden, dass die Aminosäurekonzentration im Phloemsaft positiv mit der zunehmenden Stickstoffversorgung korrelierte. Ein Einfluss der N-Versorgung auf die Phloemsaftzusammensetzung konnte für folgende Aminosäuren gezeigt werden: Arginin, Aspartat, Asparagin, Glutamat, Glutamin, Isoleucin, Methionin + Tryptophan, Phenylalanin und Valin. Allerdings hatten die für die Stylektomie verwendeten Blattlausarten einen zusätzlichen Einfluss auf die Zusammensetzung des Phloemsaftes. So war der prozentuale Anteil der Aminosäuren Valin, Phenylalanin Leucin und Methionin + Tryptophan bei Befall mit *U. tanacetii* erhöht, während der Befall der Pflanzen mit *M. tanacetaria* einen prozentualen Anstieg von Serin verursachte.

Weiterhin wurde die zeitliche und örtliche Variabilität des Phloemsaftes untersucht. Dazu wurden Phloemsaftproben verschiedener Siebröhren eines Blattes sowie mehrere aufeinander folgende Proben einer Exsudation gesammelt und miteinander verglichen. Es zeigten sich starke zeitliche Schwankungen in der Zusammensetzung des Spektrums, verursacht durch die dominanten Aminosäuren Aspartat, Asparagin, Glutamat, Glutamin, Serin, Arginin und

Lysin, welche gemeinsam einen Anteil von 86 - 96% ausmachten. Die Sammelstelle am Blatt beeinflusste die Zusammensetzung des Phloemsaftes nur geringfügig, da signifikante Unterschiede zwischen zwei Siebröhren nur für ein Blatt festgestellt werden konnten. Die Gesamtkonzentrationen der Aminosäuren waren hingegen zwischen verschiedenen Siebröhren eines Blattes zum Teil extrem unterschiedlich. Die Aminosäurekonzentrationen lagen im Durchschnitt bei 91 - 655 mM. Die Saccharosekonzentrationen der Phloemsaftproben waren mit durchschnittlich $1,3 \pm 0,5$ M hingegen relativ konstant, wobei ein durch Verdunstungseffekte bedingter Anstieg der Konzentration im Verlauf der Sammelzeit beobachtet werden konnte.

Parallel zu Analysen des Phloemsaftes wurden auch Konzentration und Zusammensetzung der Aminosäuren im Honigtau von Blattläusen bestimmt, welche an den für die Stylektomie verwendeten Pflanzen saugten. Es zeigte sich, dass alle in den Phloemsaftproben vorhandenen Aminosäuren auch im Honigtau nachgewiesen werden konnten, allerdings waren die Konzentrationen der Aminosäuren im Honigtau signifikant niedriger als im Phloemsaft. Die am höchsten konzentrierten Aminosäuren im Honigtau waren Aspartat, Asparagin, Glutamat, Glutamin und Serin. Der Vergleich der Aminosäurespektren beider Probenarten zeigte, dass Arginin, Glutamat, Glutamin sowie Methionin + Tryptophan im Honigtau gegenüber dem Phloemsaft signifikant reduziert waren, während der Gehalt von Phenylalanin im Honigtau signifikant höher war als im Phloemsaft.

Die unterschiedliche N-Versorgung hatte auch einen Einfluss auf die Saugaktivität von *U. tanacetii* und *M. tanacetaria*, die mittels Electrical Penetration Graph (EPG) beobachtet werden konnte. Dabei wurde das Verhalten von insgesamt 206 Blattläusen innerhalb der ersten 8 Stunden nach dem Ansetzen an unterschiedlich N-versorgten Pflanzen analysiert. Die Blattläuse beider Arten benötigten durchschnittlich 3 Stunden um die Siebröhren zu finden, zeigten dann aber signifikant längere Phloemsaugphasen bei Pflanzen höherer N-Versorgung. Die Individuen der Art *U. tanacetii* zeigten die längsten Phloemaufnahmephasen an 6 mM NH_4NO_3 -versorgten Pflanzen, während die Aphiden der Art *M. tanacetaria* nur an den 1 mM Pflanzen signifikant kürzere Saugphasen aufwiesen. Zusätzlich zu den EPGs wurden Präferenzversuche mit den beiden Blattlausarten durchgeführt, bei denen die Tiere zwischen Blättern unterschiedlich N-versorgter Pflanzen frei wählen konnten. Die Verteilung der Blattläuse sowie deren Reproduktionsrate wurden nach 48 Stunden ausgezählt. Auch bei diesen Versuchen zeigte sich, dass beide Arten die Pflanzenqualität offenbar wahrnehmen konnten, da sie Pflanzen höherer N-Düngung bevorzugten und auf diesen mehr Larven absetzten.

6. Summary

The influence of different nitrogen fertilisation regimes on the amino acid concentration and composition of phloem sap of tansy (*Tanacetum vulgare* L.) was analysed and observations of the search and feeding behaviour of the monophagous aphid species *Uroleucon tanacetii* (Mordv.) and *Macrosiphoniella tanacetaria* (Kalt.) on different nitrogen supplied plants were done to investigate if the aphids appreciate these differences. Genetically identical plants of tansy were bred for 1 - 3 months with nutrient solutions containing all essential macro- and micronutrients in equal amounts with exception of nitrogen. Nitrogen was added to the nutrient solution in the form of 1, 3, 6 and 12 mM NH_4NO_3 .

Increasing nitrogen concentration of the nutrient solution resulted in higher aboveground biomass and leaf area and lower root/shoot- and C/N-ratios. A comparison between the C/N-ratios of field-grown plants and of greenhouse plants and the determination of the ammonia and nitrate content of soil samples of natural tansy habitats showed that the 1 and 3 mM NH_4NO_3 nutrient solution of greenhouse plants corresponded with the nitrogen conditions of the natural habitats.

Pure phloem sap was collected by amputation of the stylets (stylectomy) of *U. tanacetii* and *M. tanacetaria* during their feeding on the plants. Both aphid species were well suitable for this method. It could be demonstrated that the amino acid concentration in the phloem sap correlated positively with the increasing nitrogen content in the nutrient solutions. Influence of the nitrogen supply on the phloem sap composition could be shown for following amino acids: arginine, aspartic acid, asparagine, glutamine, glutamic acid, isoleucine, methionine + tryptophan, phenylalanine and valine. However, the aphid species used for the stylectomy had an additional effect on the amino acid composition of phloem sap. For example the proportion of valin, phenylalanine, leucin and methionine + tryptophan in the phloem sap was higher after infestation with *U. tanacetii*, whereas the infection by *M. tanacetaria* resulted in an increase of serine.

Also the temporal and local variability of the phloem sap composition were analysed. Phloem sap samples of different sieve tubes of the same leaf and successive sequent samples of one exudation were collected and compared with each other. It could be verified that strong temporal fluctuations of amino acids composition of phloem sap occurred, mainly concerning the dominant amino acids asparagine, aspartic acid, glutamine, glutamic acid, serine, arginine and lysine, which comprised together 86 - 96 % of phloem sap amino acids. The collecting position on the leaf had a minor effect on the phloem sap composition (only in one case

significant differences were observed). However, the concentration of amino acids often varied extremely between different sieve tubes of the same leaf. The concentrations of amino acids were on average 91 - 655 mM. In contrast sucrose concentrations of phloem sap were relatively constant with a mean of 1.3 ± 0.5 M. (Effects of evaporation could not be excluded and may have caused an increase of the concentrations during the collecting period.)

Next to phloem sap analyses, also the concentration and composition of amino acids in the honeydew of aphids were investigated, which fed on the plants used for stylectomy. All amino acids from the phloem sap samples were also detected in the honeydew, the amino acid concentrations, however, were significantly lower in honeydew than in the phloem sap. The dominant amino acids of honeydew were aspartic acid, asparagine, glutamic acid, glutamine and serine. Comparison of the amino acid spectra of both kinds of samples revealed that arginine, glutamic acid, glutamine and methionine + tryptophane in the honeydew were significantly reduced compared to the phloem sap, whereas the content of phenylalanine in the honeydew was significantly elevated compared to the phloem sap.

Different nitrogen fertilisation regimes also had an effect on the feeding activity of *U. tanacetii* and *M. tanacetaria*, as was observed by Electrical Penetration Graph (EPG). The behaviour of 206 aphids was analyzed within the first 8 hours after infestation of plants. Aphids of both species needed on average 3 hours for sieve tube localisation but displayed significantly longer feeding phases on plants with higher nitrogen supply. Individuals of *U. tanacetii* displayed the longest feeding activities on plants which were supplied with 6 mM NH_4NO_3 , whereas aphids of *M. tanacetaria* exhibited longest ingestion phases on plants supplied with 3 - 12 mM NH_4NO_3 nutrient solution. Feeding preference experiments with both aphid species were carried out, during which animals could freely choose between leaves of differently nitrogen supplied plants. Aphids' distribution and their reproduction rate were determined after 48 hours. The experiments indicated that both species preferred plants of higher nitrogen fertilisation levels and deposited more larvae on these plants.

7. Literaturverzeichnis

- **Abisgold, J. D.; Simpson, S. J.; Douglas, A. E.** (1994): Nutrient regulation in the pea aphid *Acyrtosiphon pisum*: application of the novel geometric framework to sugar and amino acid consumption. *Physiological Entomology* **19**: 95-102.
- **Al-Mousawi, A. H.; Richardson, P. E.; Burton, R. L.** (1983): Ultra-structural studies of greenbug (Homoptera: Aphididae) feeding damage to susceptible and resistant wheat cultivars. *Annals of the Entomological Society of America* **76**: 964-971.
- **Ashford, D. A.; Smith, W. A.; Douglas, A. E.** (2000): Living on a high sugar diet: the fate of sucrose ingested by a phloem-feeding insect, the pea aphid *Acyrtosiphon pisum*. *Journal of Insect Physiology* **46**: 335-342.
- **Baldwin, I. T.; Halitschke, R.; Kessler, A.; Schittko, U.** (2001): Merging molecular and ecological approaches in plant-insect interactions. *Current Opinion in Plant Biology* **4**: 351-358.
- **Barlow, C. A.; McCully, M.** (1972): The ruby laser as an instrument for cutting the stylets of feeding aphids. *Canadian Journal of Zoology* **50**: 1497-1498.
- **Barneix, A. J.; Causin, H. F.** (1996): The central role of amino acids on N utilization and plant growth. *Journal of Plant Physiology* **149**: 358-362.
- **Baumann, L.; Baumann, P.** (1997): Soluble salivary proteins secreted by *Schizaphis graminum*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* **77**: 57-60.
- **Baumann, P.; Moran, N. A.; Baumann, L.** (1997a): The evolution and genetics of aphid endosymbionts. *Bioscience* **47**: 12-20.
- **Baumann, L.; Clark, M. A.; Rouhbakhsh, D.; Baumann, P.; Moran, N. A.; Voegtlin, D. J.** (1997b): Endosymbionts (*Buchnera*) of the aphid *Uroleucon sonchi* contain plasmids with *trpEG* and remnants of *trpE* pseudogenes. *Current Microbiology* **35**: 18-21.
- **Bergmeyer, H. U.; Bernt, E.** (1974): Sucrose. In: Methods of Enzymatic Analysis II (3) (ed. Bergmeyer, H. U.). Verlag Chemie. Weinheim. Academic Press. New York.
- **Bernays, E. A.; Klein, B. A.** (2002): Quantifying the symbiont contribution to essential amino acids in aphids: the importance of tryptophan for *Uroleucon ambrosiae*. *Physiological Entomology* **27**: 275-284.
- **Birkle, L. M.; Minto, L. B.; Douglas, A. E.** (2002): Relating genotype and phenotype for tryptophan synthesis in an aphid-bacterial symbiosis. *Physiological Entomology* **27**: 1-5.

- **Boggio, S. B.; Palatnik J. F.; Heldt H.-W.; Valle E. M.** (2000): Changes in amino acid composition and nitrogen metabolizing enzymes in ripening fruits of *Lycopersicon esculentum*. *Plant Science* **159**: 125-133.
- **Börner, C.** (1952): Aphidae Europae Centralis. *Mitteilungen der Thüringischen Botanischen Gesellschaft* **4**. 1-184.
- **Bracho, A. M.; Martinez Torres, D.; Moya, A.; Latorre, A.** (1995): Discovery and molecular characterization on a plasmid localized in *Buchnera* sp., bacterial endosymbiont of the aphid *Rhopalosiphum padi*. *Journal of Molecular Evolution* **41**: 67-73.
- **Brady, J.** (1965): A simple technique for making very fine durable dissecting needles by sharpening tungsten wire electrolytically. *Bulletin of the World Health Organization* **32**: 143-144.
- **Bromley, A. K.; Dunn, J. A.; Anderson, M.** (1979): Ultrastructure of the antennal sensilla of aphids. I. Coeloconic and placoid sensilla. *Cell and Tissue Research* **203**: 427-442.
- **Bromley, A. K.; Dunn, J. A.; Anderson, M.** (1980): Ultrastructure of the antennal sensilla of aphids. II. Trichoid chorodotonal and campaniform sensilla. *Cell and Tissue Research* **205**: 439-511.
- **Bromley, A. K.; Anderson, M.** (1982): An electrophysiological study of olfaction in the aphid, *Nasonovia ribis-nigri*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* **32**: 101-110.
- **Buchner, P.** (1965): *Endosymbiosis of animals with plant microorganisms*. Chichester, UK: Wiley.
- **Caillaud, M. C.; Via, S.** (2000): Specialized feeling behavior influenced both ecological specialization and assortative mating in sympatric host races of pea aphid. *The American Naturalist* **156**: 606-621.
- **Campbell, N. A.; Reece J. B.** (2006): *Biologie*. 6. Auflage. München. Pearson Studium.
- **Caputo, C.; Barneix A. J.** (1997): Export of amino acid to the phloem in relation to supply in wheat. *Physiologia Plantarum* **101**: 853-860.
- **Chen, J.; Rahbé, Y.; Delobel, B.; Sauvion, N.; Guillard, J.; Febvay, G.** (1997): Melon resistance to the aphid *Aphis gossypii*: behavioural analysis and chemical correlations with nitrogenous compounds. *Entomologica Experimentalis et Applicata* **85**: 33-44.
- **Chenard, C. H.; Kopsell, D. A.; Kopsell, D. E.** (2005): Nitrogen concentration affects nutrient and carotenoid accumulation in parsley. *Journal of Plant Nutrition* **28**: 285-297.

- **Cherqui, A.; Tjallingii, W. F.** (2000): Salivary proteins of aphids, a pilot study on identification, separation and immunolocalisation. *Journal of Insect Physiology* **46**: 1177-1186.
- **Corbesier, L.; Havelange, A.; Lejeune, P.; Bernier, G.; Perilleux, C.** (2001): N content of phloem and xylem exudates during the transmigration to flowering in *Sinapis alba* and *Arabidopsis thaliana*. *Plant, Cell and Environment* **24**: 367-375.
- **Cristofolletti, P. T.; Ribeiro, A. F.; Deraison, C.; Rahbe, Y.; Terra, W. R.** (2003): Midgut adaptation and digestive enzyme distribution in a phloem feeding insect, the pea aphid *Acyrtosiphon pisum*. *Journal of Insect Physiology* **49**: 11-24.
- **Dadd, R. H.** (1985): Nutrition: Organisms. In: G. A. Kerkut & L. I. Gilbert, eds: *Comprehensive Insect Physiology Biochemistry and Pharmacology*. Vol. **4**, Regulation: Digestion, Nutrition, Excretion. Pergamon Press, Oxford, 313-390.
- **Dailey, G. C.; Ahrlich, P. R.; Haddad, N. M.** (1993): Double keystone bird in a keystone species complex. *Proceedings of the National Academy of Science, USA* **90**: 592-594.
- **Dettner, K.; Peters, W.** (2003): *Lehrbuch der Entomologie*. 2. Auflage. Heidelberg · Berlin. Spektrum Akademischer Verlag.
- **Divol, F.; Vilaine, F.; Thibivilliers, S.; Amselem, J.; Palauqui, J.-C.; Kusiak, C.; Dinant, S.** (2005): Systemic response to aphid infestation by *Myzus persicae* in the phloem of *Apium graveolens*. *Plant Molecular Biology* **57**: 517-540.
- **Dixon, A. F. G.** (1976): *Biologie der Blattläuse*. Stuttgart. New York. Gustav Fischer Verlag.
- **Dixon, A. F. G.** (1998): *Aphid Ecology. An optimisation approach*. London. Chapman & Hall.
- **Dolling, W. R.** (1991): *The Hemiptera*. Oxford, UK. Oxford University Press.
- **Dorschner, K. W.; Ryan, J. D.; Johnson, R. C.; Eikenbary, R. D.** (1987): Modification of host nitrogen levels by the greenbug Homoptera: Aphididae: Its role in resistance of winter wheat to aphids. *Environmental Entomology* **16**: 1007-1011.
- **Douglas, A. E.** (1988): Sulphate utilization in an aphid symbiosis. *Insect Biochemistry* **18**: 599-605
- **Douglas, A. E.** (1989): Mycetocyte symbiosis in insects. *Biological Reviews* **69**: 409-434.
- **Douglas, A. E.** (1993): The nutritional quality of phloem sap utilized by natural aphid populations. *Ecological Entomology* **18**: 31-38.

- **Douglas, A. E.** (1998): Nutritional interactions in insect-microbial symbioses: aphids and their symbiotic bacteria *Buchnera*. *Annual Reviews of Entomology* **43**: 17-37.
- **Douglas, A. E.; Minto, L. B.; Wilkinson, T. L.** (2001): Quantifying nutrient production by the microbial symbionts in an aphid. *The Journal of Experimental Biology* **204**: 349-358.
- **Douglas, A. E.** (2003): Nutritional physiology of aphids. *Advances in Insect Physiology* **31**: 73-140.
- **Douglas, A. E.** (2006): Phloem-sap feeding by animals: problems and solutions. *Journal of Experimental Botany*. Vol. **57**, No. 4: 747-754.
- **Downing, N.; Unwin, D. M.** (1977): A new method for cutting the mouth-parts of feeding aphids, and for collecting plant sap. *Physiological Entomology* **2**: 275-277.
- **Duarte, P. J. P.; Larsson, C.-M.** (1993): Translocation of nutrients in N-limited, non-nodulated pea plants. *Journal of Plant Physiology* **141**: 182-187.
- **Ehrhardt, P.** (1968): Einfluß von Ernährungsfaktoren auf die Entwicklung von Säfte saugende Insekten unter besonderer Berücksichtigung von Symbionten. *Zeitschrift für Parasitenkunde* **31**: 38-66.
- **Ellenberg, H.** (1979): *Zeigerwerte der Gefäßpflanzen Mitteleuropas*. Scripta Geobotanica IX. 2. Auflage. Göttingen. Verlag Erich Goltze.
- **Epstein, E.** (1972): *Mineral nutrition of plants: principles and perspectives*. New York. London. Sydney. Toronto. John Wiley and Sons, Inc.
- **Febvay, G.; Bonnin, J.; Rahbé, Y.; Bournoville, R.; Delrot, S.; Bonnemain, J. L.** (1988): Resistance of different Lucerne cultivars to the pea aphid *Acyrtosiphon pisum*: influence of phloem composition on aphid fecundity. *Entomologica Experimentalis et Applicata* **48**: 127-134.
- **Febvay, G.; Liadouze, I.; Guillaud, J.; Bonnot, G.** (1995): Analysis of energetic amino acids metabolism in *Acyrtosiphon pisum*: a multidimensional approach to amino acid metabolism in aphids. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology* **29**: 45-69.
- **Febvay, G.; Rahbe, Y.; Rynkiewicz, M.; Guillaud, J.; Bonnot, G.** (1999): Fate of dietary sucrose and neosynthesis of amino acids in the pea aphid *Acyrtosiphon pisum*, reared on different diets. *Journal of Experimental Biology* **202**: 2639-2652.
- **Fetene M.; Müller, I.; Beck, E.** (1993): The effect of nitrogen supply to *Urtica dioica* L. plants on distribution of assimilate between shoot and root. *Botanica Acta* **106**: 228-234.

- **Finnemann, J.; Schjoerring, J. K.** (2000): Post-translational regulation of cytosolic glutamine synthetase by reversible phosphorylation and 14-3-3 protein interaction. *The Plant Journal* **24**: 171-181.
- **Fischer, D. B.** (2000): Long-distance transport. In: Buchanan B, Gruissem W, Jones R, eds.: *Biochemistry and molecular biology of plants*. Rockville. USA. American Society of Plant Physiologists: 730-784.
- **Fischer, M. K.; Völkl, W.; Schopf, R.; Hoffmann, K. H.** (2002): Age-specific pattern in honeydew production and honeydew composition in the aphid *Metopeurum fuscoviride*: implications for ant-attendance. *Journal of Insect Physiology* **48**: 319-326.
- **Fischer, M. K.; Völkl, W.; Hoffmann, K. H.** (2005): Honeydew production and honeydew sugar composition of polyphagous black bean aphid, *Aphis fabae* (Hemiptera: Aphididae) on various host plants and implications for ant-attendance. *European Journal of Entomology*. **102**: 155-160.
- **Fisher, D. B.; Frame, J. M.** (1984): A guide to the use of the exuding-stylet technique in phloem physiology. *Planta* **161**: 385-393.
- **Fisher, D. B.; MacNicol, P.** (1986): Amino acid composition along the transport pathway during grain filling in wheat. *Plant Physiology* **82**: 1019-1023.
- **Fisher, D. B.; Cash-Clarke, C.** (2000): Gradients in water potential and turgor pressure along the translocation pathway during grain filling in normally watered and water-stressed wheat plants. *Plant Physiology* **123**: 139-148.
- **Forrest, J. M. S.** (1971): The growth of *Aphis fabae* as an indicator of the nutritional advantage of galling to the apple aphid *Dysaphis devector*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* **14**: 477-483.
- **Fouché, A.; Verhoeven, R. L.; Hewitt, P. H.; Walters, M. C.; Kriel, C. F.; De Jager, J.** (1984): Russian aphid (*Diuraphis noxia*) feeding damage on wheat, related cereals and *Bromus* grass species. In: Walters M. C. (Ed.), Progress in russian wheat aphid (*D. noxia*) research in the Republic of South Africa. Technical Communication from the Department of Agriculture, Republic of South Africa **191**: 22-33.
- **Frey, W.; Lösch, R.** (2004): *Lehrbuch der Geobotanik*. 2. Auflage. Spektrum Akademischer Verlag. München.
- **Fukumurita, T.; Chino, M.** (1982): Sugar, amino acids and inorganic contents in rice phloem sap. *Plant & Cell Physiology* **23**: 273-283.
- **Gatehouse, J. A.** (2002): Plant resistance towards insect herbivore: a dynamic interaction. *New Phytologist* **156**: 145-169.

- **Gaupels, F.; Knauer, T.; van Bel, A. J. E.** (2008): A combinatory approach for analysis of protein sets in barley sieve-tube samples using EDTA-facilitated exudation and aphid stylectomy. *Journal of Plant Physiology* **165**: 95-103.
- **Geiger, D. R.; Servaites, J. C.** (1994): Diurnal regulation of photosynthetic carbon metabolism in C-3 plants. *Annual Reviews of Plant Physiology* **45**: 235-256.
- **Gilroy, S.; Jones, D. L.** (2000): Through form to function: Root hair development and nutrient uptake. *Trends in Plant Science* **5**: 56-60.
- **Girousse, C.; Bonnemain, J.-L.; Delrot, S.; Bournoville, R.** (1991): Sugar and amino acid composition of phloem sap of *Medicago sativa* L.: A comparative study of two collecting methods. *Plant Physiology and Biochemistry* **29**: 41-49.
- **Girousse, C.; Bournoville, R.** (1994): Role of phloem sap Quality and exudation characteristics on performance of pea aphid grown on lucerne genotypes. *Entomologia Experimentalis et Applicata* **70**: 227-235.
- **Girousse, C.; Bournoville, R.; Bonnemain, J.-L.** (1996): Water deficit-induced changes in concentrations in prolin and some other amino acids in phloem sap of alfalfa. *Plant Physiology* **111**: 109-113.
- **Girousse, C.; Faucher, M.; Kleinpeter, C.; Bonnemain, J.-L.** (2003): Dissection of the effect of the aphid *Acyrtosiphon pisum* feeding on assimilate partitioning in *Medicago sativa*. *New Phytologist* **157**: 83-92.
- **Grüber, K.; Dixon, A. F. G.** (1988): The effect of nutrient stress on development and reproduction in an aphid. *Entomologia Experimentalis et Applicata* **47**: 23-30.
- **Hartmann, T.** (1999): Chemical ecology of pyrrolizidine alkaloids. *Planta* **207**: 483-495.
- **Hayashi, H.; Chino M.** (1986): Collection of pure phloem sap from wheat and its chemical composition. *Plant & Cell Physiology* . **27**: 1387-1393.
- **Hayashi, H.; Chino M.** (1990): Chemical composition of phloem sap from the uppermost internode of rice plant. *Plant & Cell Physiology* . **31(2)**: 247-251.
- **Heldt, H. W.** (2003): *Pflanzenbiochemie*. 3. Auflage. Heidelberg · Berlin. Spektrum Akademischer Verlag.
- **Houk, E. J.; Griffiths, G. W.** (1980): Intracellular symbiotes of Homoptera. *Annual Review of Entomology* **25**: 161-187.
- **Jones, M. G.** (1942): A description of *Aphis (Doralis) rumicis*, L. and comparison with *Aphis (Doralis) fabae*, Scop. *Bulletin of Entomological Research*. **33**: 5-20.

- **Jongebloed, U.** (2003): Alterung und Seneszenz des Phloems und des Blattes von *Ricinus communis* L.. Dissertation Universität Bayreuth.
- **Jung, J.** (1972): Die Technik des Pflanzenversuchs. A. Die Wasserkultur höherer Pflanzen. In: *Handbuch der Pflanzenernährung und Düngung*. Band I: Pflanzenernährung. 2. Hälfte, Hrsg. H. Linser. Springer Verlag Wien - New York, 1127-1152.
- **Kainulainen, P.; Holopainen, J.; Palomäki, V.; Holopainen, T.** (1996): Effects of nitrogen fertilization on secondary chemistry and ectomycorrhizal state of scots pine seedlings and on growth of grey pine aphid. *Journal of Chemical Ecology* **22/4**: 617-636.
- **Kamachi, K.; Yamaya, T.; Mae, T.; Ojima, K.** (1991): A Role for Glutamine Synthetase in the Remobilization of Leaf Nitrogen during Natural Senescence in Rice Leaves. *Plant Physiology* **96**: 411-417.
- **Karley, A. J.; Douglas, A. E.; Parker, W. E.** (2002): Amino acid composition and nutritional quality of potato leaf phloem sap for aphids. *The Journal of Experimental Biology* **205**: 3009-3018.
- **Keller, F.** (2002): Kohlenstoffexport bei erhöhter CO₂-Konzentration: Einfluss von Ammoniumnitratkonzentration und Wurzelraum auf Wachstum und Stoffwechsel bei *Ricinus communis* L. Dissertation Universität Bayreuth.
- **Kennedy, J. S.; Kittler, T. E.** (1953): A method for obtaining phloem sap via the mouth-parts of aphids. *Nature, Lond.* **171**: 528.
- **Keskitalo, M.; Lindén, A.; Valkonen, J. P. T.** (1998): Genetic and morphological diversity of Finnish tansy (*Tanacetum vulgare* L., Asteraceae). *Theoretical and Applied Genetics* **96**: 1141-1150.
- **Kessler, A.; Baldwin, I. T.** (2003): Plant responses to insect herbivory: the emerging molecular analysis. *Annual Review of Plant Biology* **53**: 299-328.
- **Klingauf, F.** (1970): Zur Wirtswahl der grünen Erbsenlaus *Acyrtosiphon pisum* (Harris) (Homoptera, Aphididae). *Zeitschrift für Angewandte Entomologie* **65**: 419-427.
- **Klingler, J. P.; Edwards O. R.; Singh, K. B.** (2007): Independent action and contrasting phenotypes of resistance genes against spotted alfalfa aphid and bluegreen aphid in *Medicago trunculata*. *New Phytologist* **173**: 630-640.
- **Kopsell, D. A.; Kopsell, D. E.; Curran-Celentano, J.** (2007a): Carotenoid pigments in kale are influenced by nitrogen concentration and form. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **87**: 900-907.

- **Kopsell, D. A. Barickman, T. C.; Sams, C. E.; McElroy, J. S.** (2007b): Influence of nitrogen and sulfur on biomass production and carotenoid and glucosinolate concentrations in watercress (*Nasturtium officinale* R. Br.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **55**: 10628-10634.
- **Kpodar, P. M.; Latche, J. C.; Cavalie, G.** (1993): Effect of ammonium nitrogen nutrition on photorespiratory metabolism and serin biosynthesis in soybean plants. *Comptes Rendus de la Académie des Sciences Série III - Sciences de la Vie - Life Sciences* **316**: 575-578.
- **Kuo-Sell, H. L.** (1989): Aminosäuren und Zucker im Phloemsaft verschiedener Pflanzenteile von Hafer (*Avena sativa*) in Beziehung zur Saugortpräferenz von Getreideblattläusen (Hom. Aphididae). *Journal of Applied Entomology* **108**: 54-63.
- **Lam, H.-M.; Coschigano, K. T.; Oliveira, I. C.; Melo-Oliveira, R.; Coruzzi, G. M.** (1996): The molecular-genetics of nitrogen assimilation into amino acids in higher plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* **47**: 569-593.
- **Lai, C.-Y.; Baumann, L.; Baumann, P.** (1994): Amplification of *trpEG*: adaption of *Buchnera aphidicola* to an endosymbiotic association with aphids. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **91**: 3819-3823.
- **Lai, C.-Y.; Baumann, P.; Moran, N. A.** (1996): The endosymbiont (*Buchnera* sp.) of the aphid *Diuraphis noxia* contains plasmids consisting of *trpEG* and tandem repeats of *trpEG* pseudogenes. *Applied and Environmental Microbiology* **62**: 323-339.
- **Larcher, W.** (2001): *Ökophysiologie der Pflanzen*. 6. Auflage. Stuttgart. Ulmer Verlag.
- **Liadouze, I.; Febvay, G.; Guillaud, J.; Bonnot, E.** (1995): Effect of diet on the free amino acid pools of symbiotic and aposymbiotic pea aphid, *Acyrtosiphon pisum*. *Journal of Insect Physiology* **41**: 33-40.
- **Lohaus, G.; Winter, H.; Riens, B.; Heldt, H.-W.** (1995): Further studies of the phloem loading process in leaves of barley and spinach. The comparison of metabolite concentrations in the apoplastic compartment with those in the cytosolic compartment and in the sieve tubes. *Botanica Acta* **108**: 270-275.
- **Lohaus, G.; Büker, M.; Hußmann, M.; Soave, C.; Heldt, H.-W.** (1998): Transport of amino acids with special emphasis on the synthesis and transport of asparagine in the Illinois Low Protein and Illinois High Protein strains of maize. *Planta* **205**: 181-188.
- **Lohaus, G.; Moeller, C.** (2000): Phloem transport of amino acids in two *Brassica napus* genotypes and one *B. carinata* genotype in relation to their seed protein content. *Planta* **211**: 833-840.

- **Lokki, J.; Sorsa, M.; Forsén, K.; Von Schantz, M.** (1973): Genetics of monoterpenes in *Chrysanthemum vulgare*. *Hereditas* **74**: 225-232.
- **Madhusudjan, V. V.; Miles, P. W.** (1998): Mobility of salivary components as a possible reason for differences in the responses of alfalfa to the spotted alfalfa aphid and pea aphid. *Entomologia Experimentalis et Applicata* **86**: 25-39.
- **Madigan, M. T.; Martinko, J. M.; Parker, J.** (2000): *Brock Mikrobiologie*. Hrsg. W. Goebel. Spektrum Akademischer Verlag Heidelberg · Berlin.
- **Maroco, J. P.; Breia, E.; Faria, T.; Pereira, J. S.; Chaves, M. M.** (2002): Effects of long-term exposure to elevated CO₂ and N fertilization on the development of photosynthetic capacity and biomass accumulation in *Quercus suber* L. *Plant, Cell and Environment* **25**, 105-113.
- **Marschner, H.** (1995): *Mineral Nutrition of Higher Plants*. 2. Auflage. Cambridge. Academic Press.
- **McGrath, R. B.; Coruzzi, G. M.** (1991): A gene network controlling glutamine and asparagines biosynthesis in plants. *The Plant Journal* **1**: 275-280.
- **McLean, D. L.; Kinsey, M. G.** (1964): A Technique for Electronically Recording Aphid Feeding and Salivation. *Nature* (Lond.) **202**: 1358-1359.
- **Mentink, P. J. M.; Kimmins, F. M.; Harrewijn, P.; Dieleman, F. L.; Tjallingii, W. F.; Van Rheeën, B.; Eenink, E. H.** (1984): Electrical penetration graphs combined with stylet cutting in the study of host plant resistance to aphids. *Entomologia Experimentalis et Applicata* **35**: 210-213.
- **Merritt, S. Z.** (1996): Within-plant variation in concentrations of amino acids, sugar, sinigrin in phloem sap of black mustard, *Brassica nigra* (L.) Koch. *Journal of Chemical Ecology* **22**: 1133-1145.
- **Miles, P. W.** (1999): Aphid saliva. *Biological Reviews* **74**:41-85.
- **Mitich, L. W.** (1992): Intriguing world of weeds – Tansy. *Weed technology* **6**: 242-244.
- **Mittler, T. E.** (1953): Amino-acids in Phloem sap and their excretion by aphids. *Nature* (Lond.) **172**: 207.
- **Mittler, T. E.** (1957a): Studies on the feeding and nutrition of *Tuberolachnus salignus* (Gmelin) (Homoptera, Aphididae). I. The uptake of phloem sap. *Journal of Experimental Biology* **34**: 334-341.
- **Mittler, T. E.** (1957b): Studies on the feeding and nutrition of *Tuberolachnus salignus* (Gmelin) (Homoptera, Aphididae). II. The nitrogen and sugar composition of ingested phloem sap and excreted honeydew. *Journal of Experimental Biology* **35**: 74-84.

- **Mittler, T. E.** (1967): Effect on aphid feeding of dietary methionine. *Nature* **214**: 386.
- **Mohr, H.; Schopfer, P.** (1992): *Pflanzenphysiologie*. Springer-Verlag. Berlin Heidelberg New York.
- **Moran, M. D.** (2003): Arguments for rejecting the sequential Bonferroni in ecological studies. *Oikos* **100**: 403-405.
- **Moran, N. A.; Kaplan, M. E.; Gelsey M. J.; Murphy, T. G.; Scholes, E. A.** (1999): Phylogenetics and evolution of the aphid genus *Uroleucon* based on mitochondrial and nuclear DNA sequences. *Systemical Entomology* **24**: 85-93.
- **Müller, C.** (1999): Chemische Ökologie des Phytophagenkomplexes an *Tanacetum vulgare* L. (Asteraceae). Dissertation der Freien Universität Berlin.
- **Oshima, T.; Hayashi, H.; Chino, M.** (1990): Collection and chemical composition of pure phloem sap from *Zea mays* L. *Plant & Cell Physiology* **31**: 735-737.
- **Pahlow, M.** (2006): *Das große Buch der Heilpflanzen. Gesund durch die Heilkräfte der Natur*. Augsburg. Weltbild Verlag.
- **Passamani, M.; Rylands, A. B.** (2000): Feeding behaviour of Geoffrey's marmoset (*Callithrix geoffroyi*) in an Atlantic forest fragment of south-eastern Brazil. *Primates* **41**: 27-38.
- **Peel, J. S.** (1975): Investigations with aphid stylets into the physiology of the sieve tube. 171-195. in M. H. Zimmermann, and J. A. Milburn, (eds.). *Encyclopedia of Plant Physiology, 1. Transport in Plants: Phloem Transport*. Springer-Verlag. Berlin.
- **Peters, M.** (1990): Nutzungseinfluss auf die Stoffdynamik schleswig-holsteinischer Böden – Wasser-, Luft-, Nähr- und Schadstoffdynamik. *Schriftennummer Institut für Pflanzenernährung und Bodenkunde Universität Kiel* 8.
- **Peuke, A. D.; Hartung, W.; Jeschke, W. D.** (1994): The uptake and flow of C, N and ions between roots and shoots in *Ricinus communis* L. II Grown with low or high nitrate supply. *Journal of Experimental Botany* **45**: 733-740.
- **Pickett, J. A.; Wadhams, L. J.; Woodcock, C. M.; Hardie, J.** (1992): The chemical ecology of aphids. *Annual Review of Entomology* **37**: 67-90.
- **Powell, G.; Hardie, J.** (2001): A potent, morph-specific parturition stimulant in the overwintering host plant of the black bean aphid, *Aphis fabae*. *Physiological Entomology* **26**: 194-201.
- **Powell, G.; Hardie, J.** (2002): Xylem ingestion by winged aphids. *Entomologia Experimentalis et Applicata* **104**: 103-108.

- **Prado, E.; Tjallingii W. F.** (1994): Aphid activities during sieve element punctures. *Entomologica Experimentalis et Applicata* **72**: 157-165.
- **Prado, E.; Tjallingii W. F.** (1997): Effects of previous plant infestation on sieve elements acceptance by two aphids. *Entomologica Experimentalis et Applicata* **82**: 189-200.
- **Prosser, W. A.; Douglas, A. E.** (1991): The aposymbiotic aphid: an analysis of chlortetracycline-treated pea aphid, *Acyrtosiphon pisum*. *Journal of Insect Physiology* **37**: 713-719.
- **Prosser, W. A.; Simpson, S. J.; Douglas, A. E.** (1992): How an aphid (*Acyrtosiphon pisum*) symbiosis responds to variation in dietary nitrogen. *Journal of Insect Physiology* **38**: 301-307.
- **Rahbé, Y.; Delobel, B.; Calatayud, P.-A.; Febvay, G.** (1990): Phloem sap composition of lupine by aphid stylectomy: Methodology, variation in major constituents and detection of minor solutes, pp. 307, in D. C. Peters, J. A. Webster, and C. S. Chlouber, (eds.). Proceedings, Aphid-Plant Interaction: Populations to Molecules. Oklahoma State University, Stillwater, Oklahoma.
- **Reymond, P.; Weber, H.; Damond, M.; Farmer, E. E.** (2000): Differential gene expression in response to mechanical wounding and insect feeding in Arabidopsis. *The Plant Cell* **12**: 707-720.
- **Rhodes, J. D. Croghan, P. C.; Dixon, A. F. G.** (1996): Uptake, excretion and respiration of sucrose and amino acids by the pea aphid *Acyrtosiphon pisum*. *Journal of Experimental Biology* **199**: 1269-1276.
- **Rhodes, J. D.; Croghan, P. C.; Dixon, A. F. G.** (1997): Dietary sucrose and oligosaccharide synthesis in relation to osmoregulation in the pea aphid *Acyrtosiphon pisum*. *Physiological Entomology* **22**: 373-379.
- **Riedell, W. E.** (1989): Effect of Russian wheat aphid infestation on barley plant response to drought stress. *Physiologia Plantarum* **77**: 587-592.
- **Riens, B.; Lohaus, G.; Heinecke, H.; Heldt, H.-W.** (1991): Amino acids and sucrose content determined in the cytosolic, chloroplastic, and vacuolar compartments and in the phloem sap of spinach leaves. *Plant Physiology* **97**: 227-233.
- **Röber, S.; Schaller, B.** (1985): *Pflanzenernährung im Gartenbau. Handbuch des Erwerbsgärtners*. Ulmer-Verlag, Stuttgart.
- **Rouhbakhsh, D.; Lai, C.-Y.; Von Dohlen, C. D.; Clark, M. A.; Baumann, L.; Baumann, P.; Moran, N. A.; Voegtlin, D. J.** (1996): The tryptophan biosynthetic

- pathway of aphid endosymbionts (*Buchnera*): genetics and evolution of plasmid-associated anthranilate synthase (*trpEG*) within the *Aphididae*. *Journal of Molecular Evolution* **42**: 414-421.
- **Rouhbakhsh, D.; Clark, M. A.; Baumann, L.; Moran, N. A.; Baumann, P.** (1997): Evolution of the tryptophan biosynthetic pathway in *Buchnera* (aphid endosymbionts): studies of plasmid-associated *trpEG* within the genus *Uroleucon*. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **42**: 414-421.
 - **Rufty Jr. T. W.; MacKown, C. T.; Volk, R. J.** (1990): Alteration in nitrogen assimilation and partitioning in nitrogen-stressed plants. *Physiologia Plantarum* **79**: 85-95.
 - **Sandström, J.; Moran, N.** (1999): How nutritionally imbalanced is phloem sap for aphids? *Entomologia Experimentalis et Applicata* **91**: 203-210.
 - **Sandström, J.; Telang, A.; Moran, N. A.** (2000): Nutritional enhancement of host plants by aphids - a comparison of three aphid species on grasses. *Journal of Insect Physiology* **46**: 33-40.
 - **Sandström, J. P.; Moran, N. A.** (2001): Amino acid budgets in the three aphid species using the same host plant. *Physiological Entomology* **26**: 202-211
 - **Sasaki, T.; Fukuchi, N.; Ishikawa, H.** (1993): Amino acid flow through aphid and its symbiont: studies with N-labelled glutamine. *Zoological Science* **10**: 787-791.
 - **Sasaki, T.; Ishikawa, H.** (1993): Nitrogen recycling in the endosymbiotic system of the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum*. *Zoological Science* **10**: 779-785.
 - **Sasaki, T.; Ishikawa, H.** (1995): Production of essential amino acid from glutamate by mycetocyte symbionts of the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum*. *Journal of Insect Physiology* **41**: 41-46.
 - **Sattelmacher, B.; Klotz, F.; Marschner, H.** (1990): Influence of the nitrogen level on root growth and morphology of two potato varieties differing in nitrogen acquisition. *Plant and Soil* **123**: 131-137.
 - **Scheffer, F.; Schachtschabel P.** (1992): *Scheffer/Schachtschabel Lehrbuch der Bodenkunde*. 13. Auflage. Stuttgart. Enke Verlag.
 - **Schilling, G.** (2000): *Pflanzenernährung und Düngung*. Stuttgart. Eugen Ulmer Verlag.
 - **Schmeil, O.; Fitschen, J.** (1993): *Flora von Deutschland und angrenzender Länder*. 89. Auflage. Heidelberg · Wiesbaden. Quelle und Meyer Verlag.
 - **Schmitz, G.** (1998): The phytophagous insect fauna of *Tanacetum vulgare* L. (Asteraceae) in Central Europe. *Beiträge zur Entomologie* **48**: 219-235.

- **Schobert, C.; Komor, E.** (1992): Transport of nitrate and ammonium into the phloem and the xylem of *Ricinus communis* seedlings. *Journal of Plant Physiology* **140**: 306-309.
- **Schropp, W.** (1951): *Der Vegetationsversuch. I. Die Methodik der Wasserkultur höherer Pflanzen.* Methodenbuch Bd. VIII. Neuman Verlag. Radebeul und Berlin
- **Schulze, E.-D.; Beck, E.; Müller-Hohenstein, K.** (2002): *Pflanzenökologie.* Heidelberg · Berlin. Spektrum Akademischer Verlag.
- **Schurr, U.; Gebauer, G.** (1989): Aminosäureanalyse mit OPA-Vorsäulenderivatisierung. In: *Kontron (Biotek) Instruments (Hrsg.) Applikation, Information, Kommunikation.*
- **Shambaugh, G. F.; Frazier, J. L.; Castell, A. E. M.; Coons, L. B.** (1978): Antennal sensilla of seventeen aphids (Homoptera: Aphidinae). *International Journal of Insect Morphology and Embryology* **7**: 389-404.
- **Shigenobu, S.; Watanabe, H.; Hattori, M.; Sakaki, Y.; Ishikawa, H.** (2000): Genome sequence of the endocellular bacterial symbiont of aphids *Buchnera* sp. APS. *Nature* **407**: 81-86.
- **Sitte, P.; Weiler, E. W.; Kadereit, J. W.; Bresinsky, A.; Körner, C.** (2002): *Strasburger Lehrbuch der Botanik.* 35. Auflage. Heidelberg · Berlin. Spektrum Akademischer Verlag.
- **Spiller, N. J. L.; Koenders, L.; Tjallingii, W. F.** (1990): Xylem ingestion by aphids - A strategy for maintaining water balance. *Entomologia Experimentalis et Applicata* **55**: 101-104.
- **Stadler, B.** (1995): Adaptive allocation of resources and life-history trade-offs in aphids relative to plant quality. *Oecologia* **102**: 246-254.
- **Stadler, B.; Dixon, A. F. G.; Kindlmann, P.** (2002): Relative fitness of aphids: effects of plant quality and ants. *Ecology Letters* **5**: 216-222.
- **Stadler, B.** (2004): Wedged between bottom-up and top-down processes: aphids on tansy. *Ecological Entomology* **29**: 106-116.
- **Tamas, I.; Klasson, L.; Canbäck, B.; Näslund, A. K.; Eriksson, A.-S.; Wernegreen, J. J.; Sandström, J. P.; Moran, N. A.; Andersson, S. G. E.** (2002): 50 million years of genomic stasis in endosymbiotic bacteria. *Science* **296**: 2376-2379.
- **Taylor, J. E.; Hatcher, P. E.; Paul, N. D.** (2004): Crosstalk between plant responses to pathogens and herbivores: a view from outside in. *Journal of Experimental Botany* **55**: 159-168.

- **Telang, A.; Sandström, J.; Dyreson, E. Moran, N. A.** (1999): Feeding damage by *Diuraphis noxia* results in nutritionally enhanced phloem diet. *Entomologia Experimentalis et Applicata* **91**: 403-412.
- **Thao, M. L.; Baumann, L.; Baumann, P.; Moran, N. A.** (1998): Endosymbionts (*Buchnera*) from the Aphid *Schizaphis graminum* and *Diuraphis noxia* have different copy numbers of the plasmid containing the leucin biosynthetic genes. *Current Microbiology* **36**: 238-240
- **Thomas, F. M.; Ahlers, U.** (1999): Effects of excess nitrogen on frost hardness and freezing injury of above-ground tissues of young oaks (*Quercus petraea* L. und *Q. robur* L.). *New Phytologist* **144**: 73-83.
- **Thompson, G. A.; Schulz, A.** (1999): Macromolecular trafficking in the phloem. *Trends in Plant Sciences* **4**: 354-360.
- **Thompson, G. A.; Goggin, F. L.** (2006): Transcriptomics and functional genomics of plant defence induction by phloem-feeding insects. *Journal of Experimental Botany* **57**: 755-766.
- **Tingey D. T.; Johnson, M. G.; Phillips D. L., Johnson, D. W.; Ball, J. T.** (1996): Effects of elevated CO₂ and nitrogen on the synchrony of shoot and root growth in ponderosa pine. *Tree Physiology* **16**: 10.
- **Tjallingii, W. F.; Hogen Esch, T.** (1993): Fine structure of aphid stylet routes in plant tissues in correlation with EPG signals. *Physiological Entomology* **18**: 317-328.
- **Tjallingii, W. F.** (1978): Electronic recording of penetration behaviour by aphids. *Entomologia Experimentalis et Applicata* **24**: 521-530.
- **Tjallingii, W. F.** (1985): Membrane potentials as an indication for plant cell penetration by aphid stylets. *Entomologia Experimentalis et Applicata* **38**: 187-193.
- **Tjallingii, W. F.** (1988): Electrical recordings of stylet penetration activities. In A.K. Minks & P. Harrewijn (eds.) *Aphids, their biology, natural enemies and control* Vol. **2B**, Elsevier, Amsterdam pp. 95-108. (G,A)
- **Tjallingii, W. F.** (1994): Regulation of phloem sap feeding by aphids. In R. F. Chapman and G. de Boer (eds.). *Insect Feeding. Behavioural and Physiological Mechanisms*. Chapman and Hall. New York.
- **Touraine, B.; Clarkson, D. T.; Muller, B.** (1994): Regulation of nitrate uptake at the whole plant level.- *In A Whole Plant Perspective on Carbon-Nitrogen Interactions* (J. Roy and E. Garnier, eds.) pp. 11-30. SPB Academic Publisher, The Hague.

- **Unwin, D. M.** (1978): A versatile high frequency radio microcautery. *Physiological Entomology* **3**: 71-73.
- **Van Giessen, W. A.; Jackson, D. M.** (1998): Rapid Analysis of Electronical Monitored Homopteran Feeding Behaviour. *Annals of the Entomological Society of America* **91**(1): 145-154.
- **Van Helden, M.** (1992): The behaviour of *Nasonovia ribisnigri* on resistant and susceptible lettuce, pp. 286-288. In S.B.J. Menken, J. H. Visser, and Harrewijn [eds.], Proceedings of the 8th International Symposium on Insect-Plant Relationships. 1992, Wageningen, The Netherlands, Kluwer, Dordrecht, The Netherlands.
- **Van Helden, M., Tjallingii, W. F.** (1993): Tissue localisation of lettuce resistance to the aphid *Nasonovia ribisnigri* using electrical penetration graphs. *Entomologica Experimentalis et Applicata* **68**: 269-278.
- **Van Helden, M.; Tjallingii, W. F.; Van Beek, T. A.** (1994): Phloem sap collection from Lettuce (*Lactuca sativa* L.): Methodology and Yield. *Journal of Chemical Ecology* **20**(12): 3173-3190.
- **Van Helden, M., Tjallingii, W. F.** (2000): Experimental Design and Analysis in EPG Experiments with Emphasis on Plant Resistance Research: 144-171. In G. P. Walker and E. A. Backus [eds.], Principles and applications of electronic monitoring and other techniques in the study of homopteran feeding behaviour. *Thomas Say Publications in Entomology, Entomological Society of America*, Lanham, MD.
- **Vincent, R.; Fraisier, V.; Chaillou, S.; Limami, M. A.; Deleens, E.; Phillipson, B.; Douat, C.; Boutin, J.-P.; Hirel, B.** (1997): Overexpression of a soybean gene encoding cytosolic glutamine synthetase in shoots of transgenic *Lotus corniculatus* L. plants triggers changes in ammonium assimilation and plant development. *Planta* **201**: 424-433.
- **Von Dehn, M.** (1961): Untersuchungen zur Ernährungsphysiologie der Aphiden. Die Aminosäuren und Zucker im Siebröhrensaft einiger Krautgewächse und im Honigtau ihrer Schmarotzer. *Zeitschrift für vergleichende Physiologie* **45**: 88-108.
- **Walker, G. P.** (2000): A Beginner's Guide to Electronic Monitoring of Homopteran Probing Behaviour: 14-40. In G. P. Walker and E. A. Backus [eds.], Principles and applications of electronic monitoring and other techniques in the study of homopteran feeding behaviour. *Thomas Say Publications in Entomology, Entomological Society of America*, Lanham, MD.
- **Walters, K. F. A.; Brough, C.; Dixon, A.F.G.** (1988): Habitat quality and reproduction investment in aphids. *Ecological Entomology* **13**: 337-345.

- **Wallenda, T.; Stober, C.; Hogbom, L.; Schinkel, H.; George, E.; Hogberg, P.; Read, D. J.** (2000): Nitrogen uptake processes in roots and mycorrhizas. In: Schulze E-D (Hrsg.) Carbon and nitrogen cycling in European forest ecosystems. *Ecological Studies* **142**: 122-143.
- **Walling, L. L.** (2000): The myriad plant responses to herbivores. *Journal of Plant Growth Regulation* **19**: 195-216.
- **Walters, F. S.; Mullin, C. A.** (1988): Sucrose-dependent increase in oligosaccharide production and associated glycosidase activities in the potato aphid *Macrosiphum euphorbiae* (Thomas). *Archives of Insect Biochemistry and Physiology* **9**: 35-46.
- **Wassner, D. F.; Ravetta, D. A.** (2007): Nitrogen availability, growth, carbon partition and resin content in *Grindelia chiloensis*. *Industrial Crop and Products* **25(2)**: 218-230.
- **Weibull, J.** (1987): Seasonal changes in the free amino acids of oat and barley phloem sap in relation to plant growth stage and growth of *Rhopalosiphum padi*. *Annals of Applied Biology* **111**: 729-737.
- **Weibull, J.** (1988): Free amino acids in the phloem sap from oats and barley resistant to *Rhopalosiphum padi*. *Phytochemistry* **27**: 2069-2072.
- **Weibull, J.; Melin, G.** (1990): Free amino acid content of phloem sap from *Brassica* plants in relation to performance of *Lipaphis erysimi* (Hemiptera: Aphididae). *Annals of Applied Biology* **116**: 417-423.
- **Weiner, H.; Blechschmidt-Schneider, S.; Mohme, H.; Eschrich, W.; Heldt, H.-W.** (1991): Phloem transport of amino acids. Comparison of amino acid contents of maize leaves and of the sieve tube exsudate. *Plant Physiology and Biochemistry* **29**: 19-23.
- **Wensler, R. J. D.; Filshie, B. K.** (1969): Gustatory sense organs in the food canal of aphids. *Journal of Morphology* **129**: 473-492.
- **Wernegreen, J. J.; Richardson, A.; Moran, N. A.** (2001): Parallel acceleration of evolutionary rates in symbiont genes underlying host nutrition. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **19**: 479-485.
- **Wiedemann, R.** (2005): Physiologische Grundlagen der Honigtauproduktion bei Blattläusen am Rainfarn *Tanacetum vulgare*. Dissertation Universität Bayreuth.
- **Wiersum, L. K.** (1958): Density of root branching as affected by substrate and separate ions. *Acta Botanica Neerlandica* **7**: 174-190.
- **Wilkinson, T. L.; Ashford, D. A.; Prichard, J.; Douglas, A. E.** (1997): Honeydew sugars and osmoregulation in the pea aphid *Acyrtosiphon pisum*. *Journal of Experimental Biology* **200**: 2137-2143.

- **Wilkinson, T. L.** (1998): The elimination of intracellular microorganisms from insects: an analysis of antibiotic-treatment in the pea aphid (*Acyrtosiphon pisum*). *Comparative Biochemistry and Physiology A* **119**: 871-881.
- **Wilkinson, T. L.; Adams, D.; Minto, L. B.; Douglas, A. E.** (2001): The impact of host plant on the abundance and function of symbiotic bacteria in an aphid. *Journal of Experimental Biology* **204**: 3027-3038.
- **Wilkinson, T. L.; Douglas, A. E.** (1998): Plant penetration by pea aphid (*Acyrtosiphon pisum*) of different plant range. *Entomologia Experimentalis et Applicata* **87**: 43-50.
- **Wilkinson, T. L.; Douglas, A. E.** (2003): Phloem amino acids and the host range of polyphagous aphid, *Aphis fabae*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* **106**: 103-113.
- **Will, T.; Tjallingii, W. F.; Thönnessen, A.; Van Bel, A. J. E.** (2007): Molecular sabotage of plant defense by aphid salvia. *PNAS Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **104**. 10536-10541.
- **Winter, H.; Lohaus, G.; Heldt, H. W.** (1992): Phloem Transport of Amino Acids in Relation to their Cytosolic Levels in Barley Leaves. *Plant Physiology* **99**: 996-1004.
- **Winzer, T.; Lohaus, G.; Heldt, H.-W.** (1996): Influence of phloem transport, N-fertilization and ion accumulation on sucrose storage in the taproots of fodder beet and sugar beet. *Journal of Experimental Botany* **47**: 863-870.
- **Woodring, J.; Wiedemann, R.; Fischer, M. K.; Hoffmann, K. H.; Völkl, W.** (2004): Honeydew amino acids in relation to sugar and their role in the establishment of ant-attendance hierarchy in eight species of aphids feeding on tansy (*Tanacetum vulgare*). *Physiological Entomology* **29**: 311-319.
- **Woodring, J.; Wiedemann, R.; Völkl, W.; Hoffmann, K. H.** (2007): Oligosaccharide synthesis regulates gut osmolality in the ant-attended aphid *Metopeurum fuscoviride* but not in the unattended aphid *Macrosiphoniella tanacetaria*. *Journal of Applied Entomology* **131**(1): 1-7.
- **Zhang, S.; Dang, Q.-L.; Yü, X.** (2006): Nutrient and [CO₂] elevation had synergistic effects on biomass production but not on biomass allocation of white birch seedlings. *Forest Ecology and Management* **234**: 238-244.

Anhang

1. Lösungen für den Ammoniumnachweis:

- Nitroprussidlösung: 0,08 g Natrium-Nitroprussiddihydrat ($C_6H_5Na_3O_7 \times 2 H_2O$) in 100 ml Wasser gelöst (Lösung ist bei Raumtemperatur in einer Braunglasflasche drei Monate haltbar)
- Phenollösung: 35 g Phenol (C_6H_5OH) werden in 500 ml VE Wasser gelöst (Lösung ist bei Raumtemperatur in einer Braunglasflasche drei Monate haltbar)
- Pufferlösung: 140 g Natriumcitratdihydrat ($C_6H_5Na_3O_7 \times 2 H_2O$) und 11 g Natriumhydroxid (NaOH) in 500 ml H_2O gelöst
- Natriumdichlorisocyanuratsäure ($C_3Cl_2N_3NaO_3 \times 2 H_2O$)

2. Ergebnisse der HPLC-Analysen (Aminosäurekonzentrationen):

Tabelle A.1: Aminosäurekonzentrationen [mM] im Phloemsaft von verschiedenen NH_4NO_3 -gedüngten Rainfarnpflanzen - zum Sammeln der Proben wurden Blattläuse der Art *Macrosiphoniella tanacetaria* verwendet. (K. d. N.: NH_4NO_3 -Konzentration der Nährlösungen mit denen die Pflanzen angezogen wurden [mM]; Sd: Sammeldauer)

K. d. N.	Sd [h]	Asp	Asn	Glu	Gln	Ser	Gly	Ala	Tyr	Gaba	Arg	Thr	Met + Trp	Val	Phe	Ile	Leu	Lys	Σ
1	3,5	3,23	0,34	2,88	1,62	8,05	1,49	1,28	0,00	0,00	1,45	0,58	0,00	0,21	0,00	0,16	0,00	1,32	22,63
1	16,25	11,05	2,74	9,47	0,33	7,95	2,06	1,98	0,00	0,00	0,30	1,44	0,03	0,10	0,08	0,07	0,00	0,18	37,77
1	4	5,24	0,31	4,23	1,15	3,51	0,75	0,70	0,30	0,00	1,32	1,71	0,00	0,25	0,36	0,23	0,32	1,28	21,67
1	18,5	58,74	11,75	46,18	3,86	63,29	2,96	4,81	6,94	0,00	21,21	9,38	0,41	2,71	18,63	2,22	1,08	9,62	263,79
1	13,75	17,34	3,95	14,67	24,13	20,48	2,72	5,51	4,83	0,00	9,87	10,23	0,80	6,00	3,09	8,09	2,32	10,64	144,68
3	17	44,30	27,88	42,26	34,59	43,08	2,89	4,09	1,22	0,00	51,53	6,42	0,33	2,36	1,27	0,84	0,37	10,61	274,04
3	23,75	19,37	2,10	18,75	0,49	24,13	3,46	2,41	0,00	0,00	8,26	3,15	0,00	0,35	0,16	0,16	0,24	3,11	86,14
3	16	19,11	2,42	14,07	0,56	7,55	1,19	2,84	0,27	0,00	1,05	0,79	0,00	0,23	0,36	0,00	0,00	0,33	50,77
3	6,5	21,15	5,62	26,35	11,25	13,05	1,18	4,46	1,52	0,00	6,84	5,46	0,10	1,45	0,74	2,40	0,58	3,93	106,09
6	16,25	40,55	11,22	17,49	1,62	25,18	1,63	1,97	0,00	0,00	1,97	3,20	0,00	0,77	0,00	0,00	0,00	0,42	106,02
6	3	28,63	49,64	20,30	41,37	47,44	9,81	9,77	0,13	0,00	14,61	6,36	0,00	1,33	0,00	0,00	0,00	3,64	233,03
6	22	30,10	17,26	30,46	31,72	46,12	2,69	20,16	7,88	0,00	31,75	9,30	0,30	5,60	2,86	4,16	1,87	25,59	267,82
6	20,25	38,10	19,47	37,43	159,05	37,60	31,98	31,91	12,23	0,00	64,80	81,31	2,44	19,09	35,28	27,24	15,36	44,70	657,97
12	3,75	15,15	48,72	10,51	23,36	25,95	3,69	3,91	0,74	0,00	5,35	3,46	0,21	1,01	0,30	0,48	0,24	1,35	144,43
12	16	116,33	415,59	97,12	278,65	219,82	22,69	40,24	9,49	0,00	93,50	44,98	0,69	12,68	2,47	2,90	2,73	20,74	1380,63
12	6	65,06	24,60	36,75	24,02	117,99	4,80	5,93	0,73	0,00	6,35	4,89	0,00	0,82	0,00	0,00	0,96	2,99	295,89
12	7,5	31,64	48,18	49,25	229,60	79,41	6,01	47,45	7,24	0,00	51,65	22,75	2,38	15,69	3,91	6,66	6,02	11,41	619,24
12	4	24,20	41,19	41,92	25,16	27,03	2,65	4,67	1,47	0,00	36,54	10,70	0,30	3,22	1,43	5,30	0,96	14,50	241,25

Tabelle A.2: Aminosäurekonzentrationen [mM] im Phloemsaft von verschiedenen NH_4NO_3 -gedüngten Rainfarnpflanzen - zum Sammeln der Proben wurden Blattläuse der Art *Uroleucon tanacetii* verwendet. (K. d. N.: NH_4NO_3 -Konzentration der Nährlösungen mit denen die Pflanzen angezogen wurden [mM]; Sd: Sammeldauer)

K. d. N.	Sd [h]	Asp	Asn	Glu	Gln	Ser	Gly	Ala	Tyr	Gaba	Arg	Thr	Met + Trp	Val	Phe	Ile	Leu	Lys	Σ
1	18,5	68,37	18,31	42,21	24,41	26,85	3,68	4,98	0,00	0,00	1,49	5,55	2,36	0,49	1,01	0,28	0,11	1,20	201,30
1	24,5	53,86	17,59	29,76	34,67	50,37	6,06	7,21	4,79	0,00	37,39	13,57	5,63	5,89	3,93	5,96	2,12	12,52	291,33
1	9	108,45	23,67	55,31	98,40	28,80	5,07	9,40	4,40	1,11	22,94	10,68	2,79	8,91	1,48	8,19	2,23	11,79	403,61
1	5	209,21	500,16	203,17	463,06	249,55	23,53	39,30	18,12	0,00	23,30	99,07	43,70	84,74	58,38	50,57	55,94	36,84	2158,66
1	17,5	15,22	1,73	8,39	10,90	12,56	1,68	2,96	2,51	0,00	6,35	4,32	2,13	4,32	4,30	3,55	3,56	6,25	90,73
1	17,5	15,08	2,72	8,49	0,38	13,53	0,76	1,24	1,40	0,00	1,25	0,87	0,75	0,53	1,29	0,40	0,49	0,39	49,57
1	4	61,73	133,63	51,11	71,98	73,46	16,22	4,58	6,96	0,00	10,94	31,50	9,63	20,72	16,37	16,00	15,01	11,12	550,93
1	6,5	29,59	2,09	34,91	4,03	20,90	1,36	5,00	0,97	0,00	4,60	2,32	0,97	2,34	1,93	0,96	0,12	1,00	113,11
1	15,5	23,77	4,09	12,50	10,36	14,57	0,86	6,26	1,56	0,00	5,41	1,87	1,03	1,04	1,37	0,95	0,29	4,37	90,30
1	16	49,19	4,81	16,06	10,95	19,68	0,95	2,21	2,19	0,00	22,87	3,56	2,40	1,99	1,18	1,53	1,06	0,74	141,38
1	21	42,69	7,00	32,67	34,73	39,87	4,58	4,70	5,29	0,00	5,58	23,24	9,84	12,86	3,95	10,40	8,56	13,73	259,69
3	4	103,83	28,33	124,44	13,91	40,79	7,20	10,53	2,80	0,26	50,71	13,53	1,02	6,18	6,03	3,83	2,01	13,39	428,79
3	12	32,07	5,57	22,00	13,93	20,06	1,20	8,03	0,54	0,00	12,50	1,63	0,69	1,27	0,42	0,65	0,54	4,12	125,23
3	5	56,42	75,05	65,99	128,09	39,74	7,08	14,11	4,10	0,00	34,18	11,75	4,17	7,25	3,63	4,01	2,99	9,96	468,52
3	16	49,39	59,76	41,90	60,11	12,89	1,80	6,53	2,36	0,00	26,64	6,14	2,42	4,86	1,83	2,87	2,07	10,26	291,83
3	18,5	94,26	144,35	72,61	468,25	74,01	31,02	183,01	14,96	0,00	17,45	105,7	0,00	95,09	63,83	67,09	88,66	22,55	1542,84
3	12	88,76	114,99	111,31	6,95	63,46	7,66	11,49	2,10	0,39	12,56	12,69	1,44	10,94	5,07	7,62	4,04	7,82	469,27
3	12,5	196,48	13,73	95,54	57,61	82,97	33,26	19,90	2,13	4,65	11,43	18,83	2,52	6,54	5,60	4,06	2,39	3,81	561,44
3	17	70,76	14,09	66,40	13,37	58,83	2,57	7,71	1,78	0,00	19,27	8,52	1,62	3,20	2,05	2,35	0,98	12,80	286,30
3	20	61,76	28,10	49,69	11,14	57,41	4,11	7,29	0,65	0,00	15,50	6,84	1,18	3,69	1,82	2,63	1,61	9,94	263,37
3	4	36,03	14,67	25,74	50,98	21,03	1,48	5,32	4,14	0,00	7,11	3,70	2,59	3,90	2,60	3,50	1,96	3,95	188,70
3	17	109,29	53,34	52,39	182,33	98,60	2,02	27,95	15,67	0,00	84,66	40,36	19,14	41,79	32,76	38,39	22,30	29,78	850,77
3	2,25	68,56	5,85	24,97	29,55	56,36	7,78	38,72	10,75	0,00	0,00	9,29	7,27	9,62	13,22	9,45	4,91	7,00	303,31
6	18	23,10	14,28	41,91	7,96	21,83	3,47	6,40	26,08	4,13	0,00	0,12	0,84	0,78	0,00	0,18	0,30	3,80	155,17
6	9	58,34	42,43	69,02	14,86	87,49	9,60	16,17	2,82	0,00	37,50	15,56	4,25	4,72	4,77	2,24	1,21	12,41	383,39
6	6,25	38,26	188,63	47,10	61,29	52,85	9,46	6,12	1,46	0,00	10,92	13,61	4,28	18,19	4,99	7,66	5,17	7,16	477,14
6	17,5	54,69	107,08	84,41	59,87	74,54	7,27	12,97	3,47	0,50	70,96	17,37	2,85	6,90	3,08	7,90	1,90	12,74	528,49
6	19	38,07	39,78	53,82	11,15	37,38	8,42	10,63	0,51	0,00	127,27	7,93	1,59	2,80	2,31	0,89	0,36	16,23	359,12
6	4,5	17,61	10,26	23,02	2,30	26,15	4,35	4,31	0,64	0,00	3,54	2,97	0,33	1,16	0,75	1,21	0,00	6,01	104,61
6	3,25	13,94	20,33	22,68	32,47	13,33	2,36	2,35	1,55	0,00	8,00	3,68	1,06	2,45	2,44	1,70	1,15	3,68	133,18
6	18	48,44	47,30	38,55	32,71	47,51	2,35	3,32	1,45	0,00	31,59	7,63	2,31	2,54	1,55	1,54	0,87	8,13	277,81
6	23,75	58,21	60,17	52,24	38,34	50,28	2,16	5,27	2,80	0,00	24,67	7,25	3,07	6,18	3,67	4,37	2,04	10,94	331,68
6	18	51,15	10,25	34,94	17,47	28,92	1,38	7,46	3,98	0,00	44,57	4,90	1,84	4,81	4,35	3,87	2,39	19,31	241,57
6	15,5	67,49	101,09	52,97	114,06	118,14	2,65	21,28	10,46	0,00	82,83	25,00	10,78	19,16	9,61	7,60	9,47	17,26	669,84
12	17	26,55	220,25	32,08	326,74	93,64	10,77	0,00	6,45	0,00	68,07	9,15	6,33	18,23	6,92	6,27	6,79	12,47	850,70
12	18,5	50,84	35,68	40,40	60,00	67,37	19,04	9,19	1,83	0,00	33,73	13,42	1,79	4,00	2,31	1,73	0,19	11,72	353,24
12	17,5	5,83	4,24	6,90	1,49	8,75	3,90	12,24	1,36	0,00	22,39	11,53	1,09	3,51	2,56	2,57	1,18	5,43	94,97
12	16	33,14	35,42	31,66	91,55	39,82	3,80	0,81	1,71	0,00	36,00	7,32	0,32	3,61	2,96	1,52	13,72	5,77	309,14
12	4,5	38,30	43,73	39,27	152,93	28,30	8,87	12,57	3,30	0,00	34,39	7,91	1,76	2,71	1,07	0,17	0,47	4,45	380,21
12	14	36,72	19,67	46,76	8,51	32,33	2,34	3,49	0,40	0,36	25,27	4,75	0,61	1,54	0,64	1,24	0,39	11,83	196,86
12	17	111,95	110,41	131,61	55,09	162,33	6,71	18,02	4,54	0,00	42,73	20,42	3,63	10,94	5,40	8,79	4,72	18,05	715,34
12	15	30,38	27,94	38,90	57,33	27,74	3,71	5,24	1,60	0,00	24,25	8,67	1,12	3,82	1,28	1,52	1,43	8,58	243,49
12	17	14,69	36,10	36,63	28,03	42,74	3,08	7,90	2,59	0,00	44,87	6,43	1,42	5,66	3,56	4,19	2,25	12,88	253,02
12	19	272,42	281,87	135,44	193,66	169,97	15,94	10,76	3,61	0,00	37,53	26,43	5,68	0,00	8,41	11,32	6,77	22,82	1202,65
12	16	70,09	33,65	63,15	47,83	57,21	2,45	4,94	4,36	0,96	58,49	18,59	5,24	9,90	6,37	7,24	6,74	18,74	415,97

Tabelle A.3: Aminosäurekonzentrationen [mM] aufeinander folgender Phloemsaftproben einer Rainfarnpflanze im Verlauf von 31 Tagen

Tag Nr.	Uhrzeit	Asp	Asn	Glu	Gln	Ser	Gly	Ala	Tyr	Gaba	Arg	Thr	Met + Trp	Val	Phe	Ile	Leu	Lys	Σ
1	11.00-17.00	31,08	12,28	34,71	30,92	15,08	5,26	12,66	1,84	0,00	12,24	6,91	1,06	1,22	1,18	0,65	0,40	5,14	172,63
1	17.00-21.00	22,52	6,10	35,93	20,43	19,68	5,52	11,86	0,57	0,00	11,30	7,36	1,13	1,76	0,90	0,91	0,68	4,34	150,99
1	21.00-9.00	32,07	5,57	22,00	13,93	20,06	1,20	8,03	0,54	0,00	12,50	1,63	0,69	1,27	0,42	0,65	0,54	4,13	125,23
2	9.00-14.00	36,40	32,40	45,22	112,92	24,92	2,89	17,40	2,90	0,00	19,66	3,29	1,74	2,27	1,24	1,06	1,90	10,47	316,68
2	14.00-17.00	36,54	39,92	51,94	137,74	34,09	5,55	27,19	3,36	0,00	30,46	5,06	3,52	3,55	1,92	2,03	2,12	10,33	395,34
2	17.00-9.00	20,50	13,94	47,10	21,72	26,08	1,77	11,34	0,85	0,00	41,61	1,90	2,07	2,21	0,48	1,18	1,20	11,42	205,37
3	9.00-12.00	28,44	14,24	46,10	12,56	21,32	3,82	10,32	1,30	0,00	61,95	6,04	2,29	2,36	1,11	1,36	1,04	20,90	235,17
3	12.00-17.00	38,84	27,94	40,02	34,94	22,46	4,55	8,67	0,94	0,00	19,45	5,39	1,50	1,43	1,09	0,94	0,68	9,42	218,26
3	17.00-19.00	27,52	6,45	25,14	8,68	12,92	3,49	5,17	0,63	0,00	35,86	9,18	1,12	1,66	0,63	0,91	0,94	15,98	156,29
4	9.00-13.00	23,69	12,92	35,10	17,98	19,16	1,92	7,29	1,23	0,00	31,94	1,24	0,96	1,10	0,54	0,60	1,70	13,16	170,52
4	13.00-19.00	41,82	25,52	59,28	42,80	28,72	1,56	6,66	0,93	0,00	37,19	1,73	1,10	1,42	0,39	0,82	1,00	9,54	260,49
4	19.00-10.00	27,79	18,00	60,93	13,96	39,72	1,56	4,44	1,01	0,00	63,09	5,60	1,43	2,44	0,62	1,41	1,14	29,48	272,62
5	10.00-18.00	58,04	28,16	69,07	22,99	42,12	5,28	6,20	3,64	0,00	140,28	16,52	3,03	4,76	2,38	3,05	2,10	35,37	442,98
5	18.00-2.00	20,12	7,63	30,19	5,63	16,14	1,84	2,26	0,78	0,00	32,11	4,39	0,86	1,38	0,70	1,08	0,77	11,60	137,47
6	2.00-10.00	23,13	9,12	27,73	6,38	18,74	3,76	3,01	2,67	0,00	49,35	7,99	0,52	3,34	2,63	2,97	1,84	18,96	182,14
6	10.00-20.30	31,32	9,53	37,34	10,12	26,98	2,64	4,51	3,35	0,00	69,47	10,22	0,68	4,54	3,69	3,92	2,68	18,36	239,34
6	20.30-8.30	25,57	10,85	34,87	7,00	26,44	1,87	3,15	3,81	0,00	51,60	5,71	0,80	5,82	4,91	5,53	3,62	21,19	212,74
7	8.30-13.00	31,68	13,82	30,75	17,00	31,79	3,89	7,06	9,46	0,00	74,04	15,13	1,49	8,13	8,49	6,57	4,61	21,16	285,08
7	13.30-20.30	61,72	13,25	75,76	28,34	43,88	5,63	24,83	9,59	18,34	178,27	31,45	2,77	12,38	10,89	9,29	7,25	45,99	579,63
7	20.30-9.30	106,64	16,84	89,90	6,66	45,80	4,91	5,52	4,19	0,00	133,80	15,45	0,70	7,42	3,42	5,77	3,02	48,32	498,36
8	9.30-20.00	61,64	22,50	59,86	26,56	38,67	6,34	5,89	5,60	0,00	100,14	14,92	0,82	7,62	5,74	6,57	3,10	23,80	389,77
8	20.00-9.30	55,08	23,80	83,64	24,78	46,81	7,62	5,44	7,41	0,00	142,99	21,71	1,62	14,23	9,97	12,60	7,24	50,48	515,40
9	9.30-19.30	42,68	9,58	46,35	11,73	30,58	4,75	4,09	7,55	0,00	105,21	15,00	1,04	11,40	10,27	10,73	5,62	34,65	351,25
9	19.30-9.30	70,48	29,36	132,92	3,14	49,27	7,19	2,83	5,40	0,00	125,71	16,72	0,00	8,04	6,47	7,81	3,40	43,34	512,06
10	9.30-21.30	75,45	19,57	67,14	2,61	33,24	4,87	2,33	6,01	0,00	78,09	11,58	0,62	7,77	8,41	7,20	3,04	31,98	359,92
10	21.30-10.30	18,91	20,24	108,32	2,43	39,95	6,64	2,58	7,98	0,00	116,85	16,47	0,00	10,85	10,78	8,69	4,29	52,44	427,42
11	10.30-20.30	28,64	13,81	63,96	1,98	29,82	3,95	1,36	8,86	0,00	82,80	12,84	0,00	7,75	12,23	8,20	3,88	29,61	309,67
11	20.30-11.30	211,67	12,20	110,48	2,26	37,58	4,07	4,50	4,25	0,00	106,39	4,95	0,00	10,67	11,60	8,66	3,44	63,17	595,91
13	10.30-9.30	155,40	7,57	63,58	4,30	30,50	2,30	6,48	2,18	0,00	65,65	3,84	0,00	4,63	5,19	3,98	2,06	25,85	383,50
14	12.00-21.00	105,93	24,93	90,57	44,99	45,63	4,17	9,60	1,83	0,00	7,47	7,15	0,00	0,00	2,86	1,58	0,79	9,75	357,26
14	21.00-9.00	112,38	6,90	72,35	0,63	42,00	4,09	5,10	0,47	0,00	24,07	6,55	0,00	1,91	1,45	0,65	0,55	32,41	311,52
15	9.00-21.00	90,76	37,12	59,92	26,08	44,49	3,63	5,01	2,28	0,00	52,77	6,60	0,24	0,00	3,58	1,69	0,36	29,29	363,82
15	21.00-10.00	195,67	29,97	158,12	3,95	58,77	5,64	3,39	2,82	0,00	102,31	8,65	0,26	3,72	2,98	2,45	1,61	34,78	615,10
16	10.00-17.00	39,25	41,96	49,05	21,55	27,86	1,84	1,82	3,01	0,00	37,29	3,44	0,34	1,98	2,50	2,28	0,80	15,89	250,86
16	17.00-9.30	29,57	2,54	56,92	9,21	20,27	9,05	2,70	2,59	0,00	112,21	14,72	0,00	5,56	3,85	3,61	1,58	0,00	274,38
17	9.30-9.30	195,20	56,76	154,52	25,46	99,30	15,29	10,97	10,56	0,00	146,81	25,75	1,28	10,68	11,32	10,12	2,78	86,23	863,02
18	9.30-14.30	150,42	22,62	151,66	9,36	45,96	4,42	3,34	3,44	0,92	89,24	10,80	0,39	3,11	4,18	2,91	0,40	20,58	523,77
18	14.30-11.00	101,92	12,27	67,45	3,02	25,38	3,11	3,08	1,05	0,34	34,10	4,50	0,13	1,69	1,96	1,41	2,98	14,30	278,72
19	11.00-20.30	98,56	8,74	55,32	1,89	24,48	2,65	7,00	0,89	0,21	25,16	3,32	0,12	1,14	1,60	1,03	0,64	8,74	241,50
19	20.30-17.30	491,28	9,68	75,41	1,15	24,26	2,85	2,00	0,94	0,00	30,14	3,84	0,10	1,27	1,69	0,82	1,45	17,00	663,89
20	17.30-13.30	272,90	5,82	61,68	1,26	22,51	2,37	1,60	0,38	0,00	18,45	2,71	0,00	0,72	0,81	0,47	0,35	7,08	399,12
21	13.30-16.30	29,44	9,36	52,28	3,47	8,36	3,05	4,76	0,59	0,00	26,34	3,37	0,00	0,91	0,84	0,69	0,30	10,47	154,24
21	16.30-10.30	256,78	8,11	40,68	0,98	23,58	2,09	1,60	0,24	0,00	20,48	2,97	0,00	0,54	0,36	0,36	8,14	7,00	373,90
22	10.30-21.30	215,82	10,62	60,86	5,62	26,15	3,25	2,64	0,70	0,42	26,48	4,04	0,19	1,02	0,73	0,54	1,01	7,90	367,98
22	21.30-15.30	212,50	5,88	54,94	3,25	23,60	2,17	1,59	0,46	0,00	20,02	2,80	0,13	0,77	0,50	0,37	0,42	7,03	336,43
23	15.30-22.00	157,01	7,84	37,61	2,09	19,28	1,86	1,90	0,00	0,00	10,52	2,09	0,10	0,48	0,29	0,30	2,72	2,69	246,77
23	22.00-16.00	130,29	10,82	55,42	2,15	25,69	2,61	6,42	0,34	0,00	25,06	2,90	0,09	0,90	0,54	0,65	1,35	9,82	275,05
24	16.00-18.75	231,29	15,54	64,11	6,12	31,56	3,01	4,85	0,86	0,00	26,05	3,68	0,17	1,04	0,69	0,73	0,37	11,37	401,42
24	18.45-15.15	324,12	16,00	69,89	4,36	34,63	3,02	6,77	0,43	0,00	42,11	4,69	0,15	1,26	0,61	0,69	0,36	19,60	528,69
25	15.15-21.15	273,09	17,86	60,03	5,01	28,61	2,37	1,63	0,76	0,00	30,57	3,74	0,19	1,11	0,69	0,65	1,42	11,38	439,11
25	21.15-21.15	205,46	17,11	54,10	5,34	29,72	2,02	1,86	0,56	0,00	24,72	2,98	0,13	0,96	0,59	0,73	0,47	10,38	357,10

Tag Nr.	Uhrzeit	Asp	Asn	Glu	Gln	Ser	Gly	Ala	Tyr	Gaba	Arg	Thr	Met + Trp	Val	Phe	Ile	Leu	Lys	Σ
26	21.15-21.15	321,43	34,54	67,27	17,42	46,31	2,63	4,95	0,84	0,77	36,72	1,92	0,28	1,41	0,51	0,83	0,50	12,64	550,97
27	21.15-22.45	404,93	42,61	114,83	17,80	56,68	4,56	6,44	1,58	1,38	66,81	8,10	0,55	2,41	0,96	1,44	0,98	21,88	753,93
27	22.45-16.15	76,07	28,46	30,00	15,20	35,61	2,56	1,78	1,52	0,66	45,56	5,46	0,44	1,50	1,16	0,28	0,51	24,33	271,10
28	16.15-22.15	50,26	27,15	33,72	19,56	30,00	2,47	2,00	0,94	0,78	33,89	3,85	0,36	1,44	0,61	0,93	0,62	13,52	222,12
28	22.15-16.15	95,14	33,02	50,34	13,90	44,91	3,16	4,19	1,41	0,87	53,48	6,07	0,52	1,97	1,40	1,43	0,74	23,79	336,34
29	16.15-21.00	80,75	31,94	81,44	14,72	41,90	6,96	4,10	2,99	2,15	38,48	13,61	1,10	4,55	2,77	3,24	1,90	39,16	371,76
30	21.00-18.00	113,49	60,34	74,37	27,78	64,56	5,12	3,83	4,08	1,63	78,73	12,74	1,47	5,74	3,85	4,68	2,72	26,86	492,00
31	18.00-12.00	111,65	43,52	85,66	12,43	58,71	5,20	2,69	2,55	0,00	68,08	11,67	0,77	4,04	4,36	3,50	1,99	32,52	449,34

Tabelle A.4: Aminosäurekonzentrationen [mM] von (a) Phloemsaftproben und (b) Honigtauproben. Der Honigtau wurde von Blattläusen abgenommen, die zeitgleich zum Phloemsaftsammeln an den Pflanzen saugten. Gleiche Nummern geben die zusammengehörigen Proben an. (Sd: Sammeldauer)

a) Phloemsaftproben:

Proben-nr.	Asp	Asn	Glu	Gln	Ser	Gly	Ala	Tyr	Gaba	Arg	Thr	Met + Trp	Val	Phe	Ile	Leu	Lys	Summe	Sd [h]
100	42,58	24,91	45,60	19,48	42,94	1,88	5,84	0,88	0,00	13,78	4,06	0,49	2,77	1,01	2,08	1,56	11,13	220,98	5
101	58,34	42,43	69,02	14,86	87,49	9,60	16,17	2,82	0,00	37,50	15,56	4,25	4,72	4,77	2,24	1,21	12,41	383,39	9
105	61,30	151,18	61,68	41,47	136,39	5,18	5,62	2,32	0,00	17,39	20,08	2,07	12,46	6,80	9,51	5,36	16,24	555,06	17
108	64,31	90,74	58,55	76,16	96,10	5,23	17,28	6,12	0,00	105,73	18,50	1,47	5,42	3,25	4,25	1,51	25,60	580,23	8,5
114	56,42	75,05	65,99	128,09	39,74	7,08	14,11	4,10	0,00	34,18	11,75	4,17	7,25	3,63	4,01	2,99	9,96	468,52	5
117	39,75	26,49	43,70	17,40	26,70	13,83	10,30	2,74	0,00	59,42	5,05	0,37	3,57	2,46	2,42	0,84	17,77	272,81	5
122	49,39	59,76	41,90	60,11	12,89	1,80	6,53	2,36	0,00	26,64	6,14	2,42	4,86	1,83	2,87	2,07	10,26	291,83	16
124	33,14	35,42	31,66	91,55	39,82	3,80	0,81	1,71	0,00	36,00	7,32	0,32	3,61	2,96	1,52	13,72	5,77	309,14	16
125	38,30	43,73	39,27	152,93	28,30	8,87	12,57	3,30	0,00	34,39	7,91	1,76	2,71	1,07	0,17	0,47	4,45	380,21	4,5
134	98,08	20,84	46,09	38,31	35,10	3,69	6,15	4,62	0,00	21,87	7,22	1,20	9,95	3,67	8,28	3,87	12,36	321,30	12
136	209,21	500,16	203,17	463,06	249,55	23,53	39,30	18,12	0,00	23,30	99,07	43,70	84,74	58,38	50,57	55,94	36,84	2158,66	5
139	30,54	7,78	27,89	5,43	15,24	1,14	3,46	1,85	0,00	18,29	1,66	0,28	1,28	0,43	0,59	0,47	7,31	123,64	4,5
153	17,90	2,71	14,68	12,39	18,51	2,23	6,04	0,65	0,00	2,90	5,22	0,22	1,61	1,25	0,91	0,28	1,13	88,62	16
142	58,05	78,10	70,35	39,68	86,17	6,90	11,25	3,88	0,00	53,40	9,20	0,85	6,09	3,51	4,48	1,82	13,81	447,54	7,5
158	15,22	1,73	8,39	10,90	12,56	1,68	2,96	2,51	0,00	6,35	4,32	2,13	4,32	4,30	3,55	3,56	6,25	90,73	17,5
170	76,42	76,24	102,31	79,18	108,80	4,36	9,35	6,38	0,00	111,69	27,99	2,80	11,20	5,62	6,32	5,28	26,09	660,04	21

b) Honigtauproben:

Proben-nr.	Asp	Asn	Glu	Gln	Ser	Gly	Ala	Tyr	Gaba	Arg	Thr	Met + Trp	Val	Phe	Ile	Leu	Lys	Σ
100h	11,22	2,13	5,94	0,48	0,54	0,40	0,27	0,00	0,00	0,36	0,24	0,00	0,09	0,00	0,00	0,00	0,00	21,66
101h	8,88	15,90	4,38	4,98	9,70	1,25	1,14	0,45	0,00	6,66	1,80	0,16	1,27	0,70	0,78	0,69	1,41	60,14
105h	41,72	50,98	10,33	8,82	91,79	2,09	1,34	0,96	0,00	1,03	4,80	0,06	3,05	0,93	1,54	2,22	1,36	223,01
108h	3,95	5,29	3,50	2,87	4,97	1,65	3,67	0,57	0,00	1,08	0,84	0,00	0,68	0,28	0,44	0,30	0,00	30,08
114h	2,70	1,50	1,21	0,18	0,81	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,18	0,00	0,00	0,39	0,54	7,51
117h	0,09	0,41	0,09	0,13	0,24	0,11	0,00	0,01	0,00	0,15	0,06	0,00	0,06	0,00	0,00	0,23	0,49	2,08
122h	1,92	1,44	0,38	0,34	2,40	0,20	0,00	0,00	0,00	0,55	0,00	0,00	0,13	0,00	0,08	0,00	3,53	10,97
124h	1,86	2,01	1,52	3,67	0,48	0,16	1,34	0,08	0,00	0,06	0,30	0,00	0,07	0,00	0,03	0,00	0,18	11,75
125h	4,22	3,12	3,51	8,62	0,61	0,20	1,63	0,22	0,00	0,79	0,56	0,00	0,11	0,00	0,00	0,00	0,00	23,58
134h	0,03	0,04	0,00	0,06	1,10	0,09	0,00	0,00	0,00	0,23	0,13	0,00	0,03	0,00	0,00	0,09	0,55	2,35
136h	0,19	5,43	0,56	0,13	2,33	0,37	0,74	0,18	0,00	1,44	1,58	0,13	1,54	1,38	0,96	1,86	0,49	19,31
139h	0,03	0,03	0,00	0,01	0,49	0,11	0,00	0,00	0,00	0,00	0,10	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00	0,59	1,37
153h	3,38	0,57	2,27	0,57	1,76	0,25	0,00	0,04	0,00	0,26	0,13	0,00	0,10	0,00	0,03	0,00	0,60	9,98
142h	0,14	0,08	0,12	0,09	2,30	0,16	0,19	0,00	0,00	0,60	0,00	0,00	0,03	0,00	0,00	0,00	0,30	4,01
158h	0,00	0,05	0,00	0,10	1,37	0,00	0,00	1,44	0,00	0,00	0,00	0,36	1,62	2,29	1,45	0,98	2,56	12,22
170h	1,18	2,51	0,00	1,62	0,66	0,00	0,00	0,24	0,00	0,37	0,00	0,00	0,25	0,33	0,21	0,15	0,59	8,11

Tabelle A.5: Aminosäurekonzentrationen [mM] von Phloemsaftproben die nacheinander gesammelt wurden. Zum Sammeln der Proben wurden die Blattlausarten (a) *U. tanacetii* oder (b) *M. tanacetaria* verwendet. Gestrichelte Linien trennen Proben verschiedener Siebröhren voneinander. (Pfl. Nr.: Pflanzennummer; Pr. Nr.: Probennummer; Sd: Sammeldauer)

a) *U. tanacetii*:

Pfl. Nr.	Pr. Nr.	Asp	Asn	Glu	Gln	Ser	Gly	Ala	Tyr	Gaba	Arg	Thr	Met + Trp	Val	Phe	Ile	Leu	Lys	Summe	Sd [h]
1	81	37,40	41,29	46,42	26,76	36,81	15,23	7,96	2,11	0,00	39,84	7,19	0,70	3,23	3,56	2,84	0,84	6,70	278,89	2
	82	15,83	12,66	29,23	9,99	18,69	8,18	6,14	0,33	0,00	17,97	6,08	0,42	1,10	0,63	0,46	0,27	3,17	131,15	6,5
	83	23,10	14,28	41,91	7,96	21,83	3,47	4,13	0,12	0,00	26,08	6,40	0,84	0,78	0,00	0,18	0,30	3,80	155,17	18
	84	19,36	8,87	39,94	9,55	19,44	7,43	4,09	0,49	0,00	17,55	4,94	0,32	1,29	0,76	0,48	0,34	2,67	137,50	5,5
	85	4,47	1,78	36,86	12,50	15,24	7,53	3,78	0,27	0,00	13,17	5,53	0,12	0,68	0,66	0,24	0,21	2,38	105,41	20
	86	13,78	1,66	23,16	12,24	11,12	3,82	3,09	0,26	0,00	7,97	3,91	0,08	0,44	0,48	0,13	1,02	1,55	84,73	9,5
	87	34,42	5,33	31,57	14,48	25,23	1,94	6,64	0,37	0,44	18,98	5,40	0,08	0,73	0,26	0,28	0,70	4,10	150,94	19
2	101	58,34	42,43	69,02	14,86	87,49	9,60	16,17	2,82	0,00	37,50	15,56	4,25	4,72	4,77	2,24	1,21	12,41	383,39	9
	102	77,60	54,61	106,21	108,77	128,41	8,72	41,01	12,52	0,00	107,78	37,40	3,44	18,01	11,34	10,83	9,07	38,69	774,42	14
3	104	38,26	188,63	47,10	61,29	52,85	9,46	6,12	1,46	0,00	10,92	13,61	4,28	18,19	4,99	7,66	5,17	7,16	477,14	6,25
	105	61,30	151,18	61,68	41,47	136,39	5,18	5,62	2,32	0,00	17,39	20,08	2,07	12,46	6,80	9,51	5,36	16,24	555,06	17
4	107	54,69	107,08	84,41	59,87	74,54	7,27	12,97	3,47	0,32	100,74	17,37	2,85	6,90	3,08	7,90	1,90	12,74	558,09	17,5
	108	64,31	90,74	58,55	76,16	96,10	5,23	17,28	6,12	0,00	134,54	18,50	1,47	5,42	3,25	4,25	1,51	25,60	609,04	8,5
	109	30,85	48,27	101,32	32,27	35,94	6,40	17,03	7,58	1,15	30,61	29,63	2,01	9,81	3,63	5,95	3,23	13,65	379,35	8
	110	0,00	28,44	32,68	11,84	21,50	1,90	8,20	2,51	0,00	33,57	12,31	0,88	6,16	1,82	4,26	2,76	10,87	179,70	20
	111	99,39	130,88	74,59	76,67	95,57	8,80	18,24	9,23	0,00	73,04	40,47	2,56	14,22	6,31	10,61	6,73	23,82	691,14	20,45
	112	109,62	130,69	96,60	73,04	119,77	5,88	30,37	9,89	0,00	103,61	55,13	3,87	0,90	9,56	19,01	12,64	26,50	807,07	19,25
5	117	39,75	26,49	43,70	17,40	26,70	13,83	10,30	2,74	0,00	59,42	5,05	0,37	3,57	2,46	2,42	0,84	17,77	272,81	5
	118	38,07	39,78	53,82	11,15	37,38	8,42	10,63	0,51	0,00	127,27	7,93	1,59	2,80	2,31	0,89	0,36	16,23	359,12	19
	138	36,72	19,67	46,76	8,51	32,33	2,34	3,49	0,40	0,36	25,27	4,75	0,61	1,54	0,64	1,24	0,39	11,83	196,86	14
	139	30,54	7,78	27,89	5,43	15,24	1,14	3,46	1,85	0,00	18,29	1,66	0,28	1,28	0,43	0,59	0,47	7,31	123,64	4,5
6	142	58,05	78,10	70,35	39,68	86,17	6,90	11,25	3,88	0,00	53,40	9,20	0,85	6,09	3,51	4,48	1,82	13,81	447,54	7,5
	143	111,95	110,41	131,61	55,09	162,33	6,71	18,02	4,54	0,00	42,73	20,42	3,63	10,94	5,40	8,79	4,72	18,05	715,34	17
7	185	20,36	9,36	19,75	5,33	23,28	4,09	1,76	0,74	0,00	14,85	4,78	0,10	2,45	2,01	3,05	0,97	6,76	119,65	3,75
	186	29,11	6,70	22,66	4,14	23,29	2,78	10,10	0,74	0,00	16,13	3,98	0,00	1,31	1,15	1,67	0,39	6,33	130,49	20
	187	23,60	11,26	28,97	6,98	18,30	1,93	4,46	0,41	0,00	14,37	5,96	0,18	2,79	1,62	2,38	1,89	4,27	129,37	16
	188	63,39	34,76	56,58	24,85	48,76	6,61	7,44	1,63	0,00	33,94	18,60	0,74	9,27	4,22	6,55	6,44	9,17	332,95	12
	189	61,76	28,10	49,69	11,14	57,41	4,11	7,29	0,65	0,85	33,94	6,84	1,18	3,69	1,82	2,63	1,61	9,94	282,66	20

b) *M. tanacetaria*

Pfl. Nr.	Pr. Nr.	Asp	Asn	Glu	Gln	Ser	Gly	Ala	Tyr	Gaba	Arg	Thr	Met + Trp	Val	Phe	Ile	Leu	Lys	Σ	Sd [h]
1	247	13,23	2,12	13,75	0,41	15,03	2,11	2,25	0,16	0,00	5,27	2,15	0,03	0,24	0,08	0,11	0,00	1,63	58,57	17,5
	249	19,37	2,10	18,75	0,49	24,13	3,46	2,41	0,00	0,00	8,26	3,15	0,00	0,35	0,16	0,16	0,24	3,11	86,14	23,75
2	264	21,15	5,62	26,35	11,25	13,05	1,18	4,46	1,52	0,00	6,84	5,46	0,10	1,45	0,74	2,40	0,58	3,93	106,09	6,5
	265	37,59	9,63	34,62	20,13	11,91	1,86	7,41	2,26	1,41	7,38	8,17	0,18	2,24	1,08	3,93	0,74	4,88	155,42	13,5
3	268	94,16	448,00	94,16	409,51	188,07	5,18	57,36	18,49	0,00	140,3	50,59	4,06	19,32	12,79	17,21	8,78	49,86	1617,9	16,25
	269	100,1	457,36	124,23	499,52	221,53	6,35	64,50	18,83	0,00	122,4	50,20	5,26	17,27	11,14	17,76	8,49	57,24	1782,1	24,75
	270	24,20	41,19	41,92	25,16	27,03	2,65	4,67	1,47	0,00	36,54	10,70	0,30	3,22	1,43	5,30	0,96	14,50	241,25	4
	271	26,76	36,13	60,43	14,22	40,10	3,72	3,96	1,01	0,00	44,98	10,85	0,22	2,46	1,02	3,37	0,91	15,09	265,25	17
	272	63,20	102,01	82,71	79,10	72,40	7,93	8,41	4,93	0,00	81,32	24,38	0,63	4,96	1,91	8,03	1,69	23,23	566,84	12,5
	273	69,62	107,16	58,55	85,73	91,29	2,60	4,04	3,13	0,00	42,55	11,44	0,57	3,49	1,42	4,64	1,35	15,24	502,81	15
	274	80,30	146,32	72,40	106,20	114,55	5,78	6,34	5,23	0,00	65,70	21,93	1,12	5,73	2,27	6,35	2,15	20,34	662,74	23,5
	275	67,16	114,79	75,42	52,59	108,19	2,93	4,88	4,57	0,00	55,83	21,58	1,67	6,29	2,82	6,58	3,11	22,74	551,16	28,5
	276	58,59	78,33	64,39	39,91	82,32	14,3	23,91	9,72	0,00	53,35	34,31	2,98	3,88	7,88	4,20	10,92	26,59	515,58	17
	278	17,34	3,95	14,67	24,13	20,48	2,72	5,51	4,83	0,00	9,87	10,23	0,80	6,00	3,09	8,09	2,32	10,64	144,68	13,75
4	279	22,57	4,06	29,33	27,51	23,96	6,93	14,22	11,47	0,00	26,52	26,50	2,18	13,57	7,28	15,80	6,36	27,92	266,19	7
	280	71,66	9,37	50,72	83,20	61,81	8,18	14,91	12,89	0,00	38,31	31,03	2,02	17,40	8,41	19,20	7,66	37,43	474,19	4,25
	281	55,29	7,37	69,30	76,77	54,50	15,5	34,62	19,89	0,00	63,81	44,34	3,66	14,44	12,54	15,75	10,48	34,20	532,48	21,25
5	282	44,11	16,53	33,19	135,63	49,54	8,38	21,29	8,43	0,00	55,45	44,93	1,39	14,33	12,63	10,29	5,07	28,03	489,20	66
	283	38,10	19,47	37,43	159,05	37,60	31,9	31,91	12,23	0,00	64,80	81,31	2,44	19,09	35,28	27,24	15,36	44,70	657,97	20,25

3. Originaldaten der EPG-Auswertungen:

Tabelle A.6: EPG-Auswertung zum Such- und Saugverhalten der Art *U. tanacetii* (C: „stylet pathway activities“; F: „derailed stylet mechanics“; K. d. N.: NH_4NO_3 -Konzentration der Nährlösungen [mM]; Pos.: Position der Blattlaus am Blatt während der Messung: 1-oberes Drittel; 2-Mitte; 3-unteres Drittel; s: Sekunden)

Pos.	Blatt-laus Nr.	K. d. N.	Gewebe-anstiche	Mess-dauer [s]	Proben-dauer [s]	Dauer C [s]	Dauer F [s]	Dauer Xylem [s]	Zell-anstiche	Phloem-anstiche	Dauer Phloem [s]	1. Phloem-kontakt nach [s]
2	1	1	2	28800	28667	2489,6			67	3	25558	1623
2	2	1	15	23602	15574	12294		870	251	7	1005	19124
2	3	3	1	28800	28795	3718,8			101	2	23993	3657
2	4	3	4	28770	28520	6673,1			274	20	19851	545
2	5	6	7	23723	15019	5776,5	1479	1468	252	9	4151	2547
2	6	6	2	28800	27830	3530,8			90	3	23394	3306
2	7	12	24	15803	10551	9720,7			141	1	230	3000
2	8	12	20	28800	23683	10877			311	16	10808	738
2	9	6	22	28800	6448	6024,5			94			
2	10	12	15	11194	5014	2739,9		2123	37			
2	11	1	8	24602	17286	8083,2	20	8579	113			
2	12	1	21	28768	15986	11054			264	1	3370	17189
2	13	3	16	28800	24868	6655,7			127	8	17185	8759
2	14	12	13	28777	13039	9467,2			230	10	2059	17584
2	15	1	26	24808	17076	13259			277			
2	16	1	8	11226	5882	1719,9		4012	32			
2	17	3	34	28800	16765	12877		2286	283	1	88	9825
2	18	3	2	12550	6352	1118,3		5162	16			
2	19	3	6	14850	10019	6427,6	1946	1153	90			
2	20	6	31	28767	21980	10316			325	4	9624	8702
2	21	6	25	28800	20438	8915,1		512	221	5	9887	2038
2	22	12	16	28800	18297	10360		2392	250	4	4067	6375
2	23	1	17	28000	6086	3984,5			129	2	1372	25045
2	24	3	22	28800	8564	6820,7		1621	29			
2	25	3	5	28800	5158	2487,4		2515	36			
2	26	6	16	28800	7152	4361,8		2381	92			
2	27	6	44	28800	14191	7869,7		1609	188	1	3771	12322
2	28	12	9	28800	26829	10786			344	6	14026	5896
2	29	12	58	28168	13047	10958		1462	137			
2	30	12	36	28800	15341	11235		2981	238			
2	31	1	19	20228	10924	6682,2	2600		163	2	821	5156
2	32	3	19	28548	17705	11692	4642		273	1	192	25655
2	33	3	8	28565	24379	15957		7268	232	5	115	4847
2	34	6	8	28800	27049	6255,4	1423		203	4	18012	3615
2	35	6	3	5151	3873	3489,3			82			
2	36	12	1	28800	28680	1479,6			39	1	27020	1781
2	37	12	6	28800	27333	9646,3		2698	321	8	13316	3701
2	38	1	27	28800	24712	9909,5			252	4	13344	4231
2	39	1	13	28800	17765	10281	52	4827	174	7	1723	14969
2	40	3	10	28796	11728	10576			178	2	64	16625
2	41	3	25	28497	15531	13988			238	1	72	21890
2	42	6	27	28800	7911	7179,2			164			
2	43	6	11	28800	12810	3214,2			94	1	9066	19734
2	44	12	10	28800	27315	9872,8			267	3	15292	7011
2	45	12	23	28800	10279	7381,9		2632	59			
2	46	1	10	20666	8112	5652,9		1827	114			

Pos.	Blatt- laus Nr.	K. d. N.	Gewebe- anstiche	Mess- dauer [s]	Proben- dauer [s]	Dauer C [s]	Dauer F [s]	Dauer Xylem [s]	Zell- anstiche	Phloem- anstiche	Dauer Phloem [s]	1. Phloem- kontakt nach [s]
2	47	1	8	19537	10816	4257,1	5797		96	1	55	13486
2	48	3	11	20696	7961	6901,1			102	2	285	11229
2	49	3	9	20666	19817	8487,5		7839	129	5	2558	17217
2	50	6	9	20671	19204	4704,1			82	2	13851	3015
2	51	6	5	20670	15271	5470,7			147	1	8298	12372
2	52	12	13	20670	15929	5781,6			119	2	9464	8185
2	53	12	18	20670	14359	6891,6	2862		106	3	3845	6641
2	54	1	7	28796	19614	7402,3		2583	184	3	8643	19425
2	55	1	16	28796	24627	18119	366		559	27	3335	1883
1	56	1	9	5746	2554	2087,7	234		51			
1	57	1	4	28800	28167	11202			331	24	15119	761
1	58	3	31	28800	19780	12801			237			
1	59	6	5	28800	26365	3485,5		2216	93	5	19975	6561
1	60	12	5	28800	26474	4848	1236		128	2	19711	8613
1	61	12	2	6336	2757	1505,6	1133		0			
1	62	1	7	28800	22896	8721			190	3	13337	15011
1	63	1	24	28800	19530	16584			372	4	636	20198
1	64	3	10	28800	22958	9038,1			265	3	12336	3798
1	65	3	10	28800	23083	11708		2324	293	18	7440	598
1	66	6	6	28800	25420	2869			89	3	21776	5369
1	67	6	8	28800	19392	4172,8		2816	67	1	12067	16733
1	68	12	56	28800	14656	13351			163			
1	69	1	9	28617	15222	7128,1	6952		146	4	146	25085
1	70	1	33	28800	22409	11674	171		269	10	8927	5030
1	71	3	13	16368	9119	5314	3243		101			
1	72	3	14	28800	25714	5839,4	9045		139	3	9907	17059
1	73	6	7	28800	26832	8543,8	3334		191	4	13426	12886
1	74	12	11	16054	5174	4723,3			50	1	194	15319
1	75	1	25	28509	17241	8455,2	661	7337	146			
1	76	3	11	28800	22520	6830,3	2150	13030	59	1	177	13556
1	77	3	17	28800	3727	3423,2			57			
1	78	6	14	28800	20426	6925,7			114	3	12619	15630
1	79	6	1	28800	12085	2865,9			64	5	8640	17997
1	80	12	27	28800	22311	3670,1	1071		40	2	17303	7614
3	81	1	2	28800	28694	8632,2			217	8	17908	1357
3	82	1	3	28800	28459	4955,9			122	4	22711	2301
3	83	3	29	28800	16198	8945,1	167		322	8	4862	10931
3	84	3	57	28800	19775	14223	186		429	3	2347	7025
3	85	6	31	28000	24086	11249			403	3	9534	5198
3	86	6	8	28800	26190	10475			301	4	14033	11040
3	87	12	2	28800	28004	2247,6			65	3	25223	2457
3	88	1	44	28800	18760	16215			419	2	202	11505
3	89	1	26	28800	23042	14003			281	5	7135	5232
3	90	3	4	20909	20736	8765,8	429	10907	128			
3	91	6	12	19828	16862	9333			161	1	6725	13103
3	92	12	9	28800	13244	7128,8		105	213	3	5054	21326
3	93	1	13	20676	9541	4056,9	391	4333	48	1	507	20170
3	94	3	19	20676	10028	6748,4	515		198	1	1557	13273
3	95	6	29	20676	10408	7265,5	1984		205	1	200	15197
3	96	6	7	20676	14815	6906,9	2654	1323	103	2	3279	6423
3	97	1	13	28800	22445	13261		7257	215	5	476	17679
3	98	1	18	28800	19657	7130,7			181	6	11463	890
3	99	3	3	28456	27600	2886,6		1289	33	1	23248	5150
3	100	3	22	28800	21591	16243		3733	174	2	521	18388
3	101	6	2	28800	28280	8132,6		2793	254	2	15483	10368
3	102	3	31	28018	17250	9237,1	3674	1722	242	1	1507	14803
3	103	3	9	28800	26780	7907,9	3246	2332	135	2	12590	9067
3	104	6	20	28800	22460	5599,4	2269		255	1	12416	12258

Pos.	Blatt- laus Nr.	K. d. N.	Gewebe- anstiche	Mess- dauer [s]	Proben- dauer [s]	Dauer C [s]	Dauer F [s]	Dauer Xylem [s]	Zell- anstiche	Phloem- anstiche	Dauer Phloem [s]	1. Phloem- kontakt nach [s]
3	105	12	12	28800	24602	5855,7			146	3	17858	8771
3	106	1	28	28409	10962	9834			161			
3	107	3	33	28351	18558	8740,1			223	4	4970	19166
3	108	3	9	16848	11606	6681		4028	215	2	320	4955
3	109	6	10	28800	27297	13904		4581	356	9	6126	716
3	110	6	2	21075	20219	2734,7		6141	61	1	10970	9405
3	111	12	18	28800	19137	8813,1	6478	2921	181			
3	112	12	37	28800	17162	12927	1242		329	3	999	22083
3	113	1	1	11643	10991	2990,5		7576	59			
3	114	3	6	28800	21119	7437			117	1	12790	16010
3	115	6	11	28800	24517	7636,1			179	4	15752	6808
3	116	12	4	28800	28201	9771,8	8157	4853	125	1	4588	24212
3	117	12	8	9004	6681	5811,9			115			
3	118	12	26	28800	23893	12613			347	1	85	15807
2	119	12	9	28800	26286	5850,8			121	2	19574	4656
2	120	12	11	22465	18562	10247		5499	170	1	1754	14379
1	121	12	8	19157	16158	13945			144	4	1113	10596

Tabelle A.7: EPG-Auswertung zum Such- und Saugverhalten der Art *M. tanacetaria* (C: „stylet pathway activities“; F: „derailed stylet mechanics“; K. d. N.: NH_4NO_3 -Konzentration der Nährlösungen [mM]; Pos.: Position der Blattlaus am Blatt während der Messung: 1-oberes Drittel; 2-Mitte; 3-unteres Drittel; s: Sekunden)

Pos.	Blatt- laus Nr.	K. d. N.	Gewebe- an- stiche	Mess- dauer [s]	Aktivitäts- dauer [s]	Dauer C [s]	Dauer F [s]	Dauer Xylem [s]	Zell- anstiche	Phloem- anstiche	Dauer Phloem [s]	1. Phloem- kontakt nach [s]
1	1	1	25	27477	21376	8549	9337	3177	67			
1	2	1	23	27477	18797	14912		1722	215	4,00	1225	22908
1	3	3	14	27478	24570	7758			268	4,00	15839	4916
1	4	3	6	27472	26408	4959	653		82	5,00	20359	3329
1	5	6	2	27477	27199	821			36	1,00	26222	1269
1	6	12	9	27446	26337	5343			187	4,00	20229	4757
1	7	12	19	27477	22173	8627			365	13,00	12053	3091
2	8	1	20	25991	21333	5281	1139		141	2,00	14218	7783
2	9	1	35	28800	19872	12566	3753	2327	257			
2	10	3	12	28800	24518	6676	402		153	4,00	16658	10679
2	11	6	14	28800	24735	11160			400	24,00	11719	5067
2	12	6	40	28800	21251	14706	1798		414	12,00	2770	4791
2	13	12	16	28800	26444	4977			133	6,00	20890	7227
2	14	12	42	28800	16783	5738	7522	3013	114	1,00	55	6004
3	15	1	9	28040	20389	8982	7131		157	2,00	3534	16287
3	16	1	10	28800	25446	5619	756		131	7,00	18453	8077
3	17	3	9	28795	26839	13621	2017		267	8,00	9834	481
3	18	3	28	28795	23126	6458			164	12,00	15778	2066
3	19	6	11	28800	24917	10326	548		86	5,00	13604	13570
3	20	6	17	28800	20933	12110			167	5,00	8085	9399
3	21	12	95	28800	17880	15937	1296		174			
3	22	12	65	23796	22637	3345		19292	0			
1	23	1	13	27753	11903	8395	602		114	2,00	2189	20175
1	25	3	9	28800	21323	3055			96	4,00	17741	9400
1	26	3	16	28800	17810	12783		1537	303	11,00	1825	7250
1	29	12	33	28410	12321	9028	305	2496	132			
2	30	1	14	28800	20476	11854	6400		337	7,00	624	12631
2	31	1	15	24724	16071	15705			73			

Pos.	Blatt- laus Nr.	K. d. N.	Gewebe- an- stiche	Mess- dauer [s]	Aktivitäts- dauer [s]	Dauer C [s]	Dauer F [s]	Dauer Xylem [s]	Zell- an- stiche	Phloem- an- stiche	Dauer Phloem [s]	1. Phloem- kontakt nach [s]
2	33	6	21	28800	17559	5167	5287	1959	73	3,00	4792	17256
2	35	12	26	28689	22098	9934	10026		270	2,00	872	19884
2	36	12	26	28800	14838	4163	1972		93	2,00	8283	20226
3	39	3	18	28800	24455	8517	1281	2603	300	8,00	10107	7009
3	40	6	23	15759	2518	2199	229		21			
3	41	6	35	18264	8900	3961	4067	654	54			
3	42	12	24	28800	15797	3575	1989		62	2,00	9950	18494
3	43	12	18	28800	23334	5953	2711		97	12,00	14033	12429
1	44	1	14	28800	19061	13040			373	12,00	4227	3862
1	45	1	16	28557	16591	11424		1033	301	7,00	2864	20442
1	46	3	24	21802	9855	8935			239			
1	47	6	31	26482	17798	11070	5866		225			
1	48	6	20	28800	23403	3360	525		33	3,00	19359	8765
1	49	12	5	28800	26418	1931	3950	2285	53	1,00	17990	10810
1	50	3	11	28800	13213	9371		1807	233	1,00	1125	10559
1	51	6	16	28676	24448	3585	1641		77	4,00	18740	8068
2	52	1	11	28800	9003	6058		2152	139	1,00	121	27372
2	53	3	37	28664	16127	12219		3197	195			
2	54	3	10	28800	23264	6942			144	1,00	15765	13035
2	55	6	43	28552	13629	7680		5434	117			
2	56	6	13	28800	27111	13469		9790	343	10,00	2442	16146
2	57	12	2	22604	22316	829		21425	16			
3	58	1	16	27936	24884	9183	10341	4395	189			
3	59	1	35	27936	18416	13560		4112	169			
3	60	3	65	27936	18216	8794	7759	1076	147			
3	61	3	41	27717	19672	9705	8169	1233	149			
3	62	6	30	27936	21916	13142		1588	268	3,00	6031	15819
3	63	6	19	25988	16446	10096		6170	46			
3	64	12	34	27936	22445	16715	90	4579	223	1,00	211	18853
3	65	12	1	28800	28800	4389			103	7,00	23646	1476
3	66	12	40	28800	24485	15440		2296	299	4,00	4951	1482
3	67	1	31	28800	22935	18720		1143	362	9,00	1287	7656
3	68	12	16	28485	9864	5492	1231	2513	100			
1	69	1	7	28257	24797	15544			132	4,00	8297	11048
1	70	3	11	22439	10683	5737		4608	76			
1	71	3	8	28800	27759	6020			161	8,00	20944	475
1	72	6	14	28800	26163	9942		4140	200	3,00	11174	14965
1	73	12	10	17142	10969	10395			109			
1	74	1	3	28800	27703	14341	3977	6435	188	7,00	1996	16042
1	75	6	5	28800	27686	5106			130	4,00	21931	1661
1	76	12	12	28800	23715	11966			222	7,00	9837	11005
1	77	12	13	28800	27721	8393			161	3,00	18653	5089
2	78	1	28	28404	18955	14716		2485	261	2,00	253	18128
2	79	3	26	28800	16674	11627	2664	1311	194	1,00	114	17313
2	80	6	30	28800	18853	15443			350	5,00	1639	16506
2	81	12	11	28800	16188	6387			29	1,00	9623	19177
2	82	1	18	25825	20819	9132			126	5,00	11139	9198
2	83	3	9	15665	10767	5592		2003	74	1,00	2869	12477
2	84	3	5	15358	12575	5350	468	6525	50			
2	85	6	18	26427	5773	5416			78			
2	86	6	13	14014	7692	7574			20			
3	87	1	20	26086	12388	6055	2937	2855	88	1,00	85	21709
3	88	3	12	23920	17220	8169		2298	108	4,00	6214	19613
3	89	3	7	28800	23850	7170	3472	1459	77	3,00	11332	16211
3	90	6	20	28800	21437	7060		1979	92	4,00	11850	12442
3	91	12	11	28800	27163	11142	371		111	2,00	14937	12767
3	92	12	1	28800	28367	2569		25751	9			

Danksagung

Mein herzlicher Dank gilt allen Personen, die es mir ermöglicht haben, meine Dissertation am Lehrstuhl für Pflanzenphysiologie in einer angenehmen Atmosphäre durchzuführen, insbesondere:

- Herrn Prof. Dr. Ewald Komor für die Überlassung des Themas und dem entgegengebrachten Vertrauen, welches mir die selbständige Arbeit ermöglichte
- Frau Susanne N. Bauer für die gewissenhafte Einarbeitung in die angewandten Methoden und ihre Hilfe bei Problemen während deren Durchführung sowie für den regen Gedankenaustausch und die Möglichkeit, die von ihr aufgebaute Blattlauszucht zu nutzen
- Frau Pia Schuster und Renate Krauß für die Hilfe während der Messungen der Aminosäure- und Saccharosekonzentrationen
- Sämtlichen Mitarbeitern des Lehrstuhls für Pflanzenphysiologie, Frau Dr. Katja Hartig und Herrn Dr. Oscar Valdes für die allgemeine Hilfe bei Problemen während der praktischen Arbeit im Labor und den regen wissenschaftlichen Gedankenaustausch
- Herrn Dr. Heiko Rödel und Herrn Dr. Stefan Dötterl für die Einführung in diverse Statistikprogramme und die stete Bereitschaft, diesbezüglich Fragen zu beantworten
- Herrn Prof. Dr. Karlheinz Seifert und Frau Andrea Liehr für den Versuch der Identifizierung einer unbekannten Komponente des Phloemsaftes
- Den Gärtnern der Versuchsgewächshäuser für die Anregungen zur Optimierung der Pflanzenanzuchten und deren Versorgung während meiner Abwesenheit
- Den Mitgliedern des Graduiertenkollegs 678 für die interessanten Diskussionsbeiträge während der Seminare
- Der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG) für die Finanzierung dieser Arbeit im Rahmen des Graduiertenkollegs 678

Besonders danken möchte ich meiner Familie und meinem Freund Dr. Matthias Kador sowie meiner Freundin Kristin Roos für die Unterstützung während der Zeit der Promotion, die zahlreichen wissenschaftlichen und nicht wissenschaftlichen Gespräche sowie für das kritische Korrekturlesen dieser Arbeit.

Hiermit versichere ich, die vorliegende Arbeit selbständig verfasst und keine anderen als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet zu haben. Diese oder eine gleichartige Doktorprüfung habe ich nicht an einer anderen Hochschule endgültig nicht bestanden.

Heike Nowak

Bayreuth, den 21.04.2008